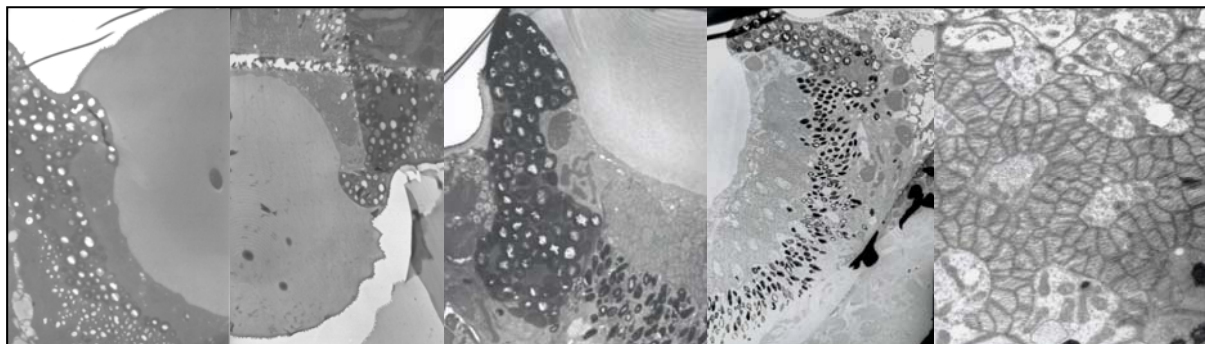




Hinc patriam sustinet

Instituto Superior de Agronomia
Universidade Técnica de Lisboa



Efeito de factores de natureza visual na localização de fontes de feromona pelos machos de cochonilha-algodão dos citrinos, *Planococcus citri* (Risso)

Leonor Pedroso Mendes da Silva Campos

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Agronómica

Orientador: Doutor José Carlos Franco Santos Silva

Júri:

Presidente: Doutora Maria Helena Mendes da Costa Ferreira Correia de Oliveira, Professora Associada do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Vogais: Doutora Maria Teresa Ferreira Ramos Nabais Oliveira Rebelo, Professora Auxiliar da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa;

Doutor José Carlos Franco Santos Silva, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Lisboa, 2008

Aos meus Pais

AGRADECIMENTOS

Finalmente, tenho a oportunidade de reconhecer publicamente o valor da participação de PESSOAS muito especiais, ou pelo seu valor científico ou pelo seu valor técnico ou pelo seu valor emocional.

Ao meu Orientador e Mestre **Professor Doutor José Carlos Franco**, o meu Obrigado pela forma envolvida e envolvente com que defendeu este tema, pela oportunidade de explorar um tema pouco estudado e de testar (e arriscar) novas abordagens, pela sageza das suas críticas e sugestões, pelos conhecimentos transmitidos, pelo rigor das suas revisões, pelos “graus de liberdade” concedidos e pela confiança depositada.

À **Professora Doutora Teresa Rebelo**, da Faculdade de Ciências de Lisboa, por ter disponibilizado e assegurado todas as condições necessárias à realização do protocolo de Microscopia Electrónica de Transmissão (MET), pela forma com que se envolveu na resolução de todas as burocracias e contratempos e por todo o optimismo mantido e transmitido nas diferentes fases do protocolo.

Ao **Professor Doutor Carlos Azevedo**, do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, que tive o prazer de conhecer no Curso de MET administrado na UTAD, pelo delineamento do protocolo de MET e por todos os conselhos e advertências que não constam de nenhum manual.

To **Professor Thierry Brévault** (University of Arizona, USA) and to **Professor Árpád Szentesi** (Loránd Eötvös University, Hungary) in particular, for his extensive explanation, for their advice about the best artificial light source to use in the experiments conducted in laboratory conditions.

To **Professor Elke Buschbeck** (University of Cincinnati, USA), for enlighten me about the initial steps of Transmission Electron Microscopy (TEM) procedure.

To **Professor Adriana Briscoe** (University of California, USA), for having conferred the subtitles of the pictures captured with TEM.

À Técnica de Biologia Celular, **Marisa Pardal**, do Instituto Gulbenkian e da Ciência, pelo serviço prestado no corte das amostras no ultramicrotomo e na sua observação no microscópio electrónico de transmissão, por todo o seu profissionalismo, eficiência e simpatia.

Ao **Sr. Chaveiro**, Técnico do Laboratório de Microscopia da Estação Agronómica Nacional, pelo tempo cedido, pelos conhecimentos transmitidos e por todos os contactos estabelecidos.

À **Professora Doutora Joana Duclos**, pelo precioso empréstimo do agitador magnético, imprescindível ao sucesso do protocolo de MET.

À **Doutora Elsa Borges**, por todo o apoio prestado na criação e nas fotografias das cochonilhas, e na discussão dos protocolos.

Ao **Sr. Manuel Cariano**, Técnico do Laboratório de Pragas e Auxiliares do Departamento de Protecção de Plantas e Fitoecologia (DPPF), pelo precioso apoio prestado em todas as saídas de campo, pela execução e aperfeiçoamento dos dispositivos de arame apresentados em esboço, pela laboriosa instalação do sistema de iluminação, pela constante preocupação com a evolução do meu trabalho, pelo carinho, pela Amizade.

À **D. Teresa Inês**, do Secretariado do DPPF, sempre incansável, pela simpatia e carinho com que sempre me recebeu.

Ao **Engº Rui Gonçalo Tavares**, Agrónomo e Fotógrafo, por ter aceite testar um novo conceito de fotografia, com o objectivo de demonstrar a existência de contraste UV entre o céu e a copa das árvores e averiguar a existência de reflexão de UV pelo tegumento das fêmeas de cochonilha, pelo excelente serviço fotográfico prestado, por todo o material disponibilizado, pelo tempo e esforço dispensados (as fotografias não foram incluídas na tese por não se terem conseguido detectar diferenças).

À **Lúcia Porto Góis**, Bióloga pela Faculdade de Ciências de Lisboa, a minha “comparsita” na aventura interminável de MET, do Algarve a Trás-os-Montes, que fez com que nunca colocasse a hipótese de ceder aos inúmeros, consecutivos e exasperantes obstáculos. Por todos os sustos e conquistas partilhados, pela Amizade.

À **Engª Ana Passarinho** e à **Engª Lisa Cortegano**, por terem coordenado os seus horários com os meus períodos de “ocupação” do insectário e do computador.

À minha querida **Avó**, por todo o apoio, pela constante preocupação, pelos domingos revigorantes.

À minha **Mãe**, pelo Amor e apoio incondicionais.

Ao meu mano **Miguel**, por encher a minha vida de cor!

RESUMO

O presente trabalho insere-se no âmbito do Projecto POCI/AGR/57580/2004, tendo como objectivo estudar a influência de chaves-visuais (cor e forma) na atracção a curta-distância dos machos adultos de cochonilha-algodão dos citrinos, *Planococcus citri* (Risso), relativamente a uma fonte de feromona, e caracterizar a morfologia interna dos seus três pares de olhos simples.

A preferência cromática foi testada em campo (com estímulo químico) e em laboratório (sem estímulo químico), com quatro modalidades de armadilhas cromotrópicas adesivas – brancas, verdes, amarelas e vermelhas. O estudo na morfologia interna nos olhos foi realizado através de Microscopia Electrónica de Transmissão (MET).

A atracção dos machos de cochonilha pelas armadilhas vermelhas foi significativamente superior às armadilhas verdes e amarelas. Aparentemente, não conseguiram discriminar as formas das armadilhas. Os três pares de olhos apresentam grande afinidade com os olhos dorsais típicos. As características dos olhos ventrais sugerem uma sensibilidade à luz e um poder de resolução superiores aos pares dorsal e lateral. A possível sensibilidade dos machos de *P. citri* aos comprimentos de onda ultravioleta e/ou à luz polarizada é discutida.

Os resultados sugerem que as chaves visuais poderão ser utilizadas no incremento da eficiência de táticas de protecção baseadas no uso de feromonas, em relação à cochonilha-algodão.

Palavras-chave: *Planococcus citri* (Risso); cochonilhas; armadilhas cromotrópicas; feromona; visão dos insectos; citrinos.

ABSTRACT

This work is part of the Project POCI/AGR/57580/2004 and was aimed at studying the influence of visual cues (colour and silhouette) in short-range attraction of the adult males of the citrus mealybug, *Planococcus citri* (Risso), in response to a pheromone source, and characterizing the internal morphology of its three pairs of simple eyes.

Colour preference was tested in field (with chemical stimuli) and laboratory (without chemical stimuli), using four coloured sticky traps – white, green, yellow and red. The study of the internal morphology of the eyes was carried out using Transmission Electron Microscopy (TEM).

The attraction of mealybug males to red traps was significantly higher than to green and yellow traps. Apparently, they were not able to distinguish trap silhouettes. The three pairs of eyes have great resemblance with typical dorsal eyes. The characteristics of ventral eyes suggest a higher light sensibility and a better resolution, relatively to the dorsal and lateral pairs. The possible sensitivity of *P. citri* males to ultraviolet wavelengths and/or polarized light is discussed.

The results suggest that the visual cues may be used to improve the effectiveness of pheromone-based management tactics for pest mealybugs.

Key-words: *Planococcus citri* (Risso); mealybugs; colour traps; pheromone; insect vision; citrus.

ABSTRACT

The citrus mealybug (CM), *Planococcus citri* (Risso), is a cosmopolitan pest, affecting many crops. In Portugal, it is considered an occasional or key pest of citrus.

Chemical control is still the most common control tactic used against CM. However, its cryptic behaviour, typical waxy body cover, and clumped spatial pattern render the use of many insecticides ineffective. Repeated insecticide use, in particular broad-spectrum chemicals, also adversely impacts mealybug natural enemies. Insecticide resistance has been also contributing for the unsustainable use of some chemicals. Furthermore, many of these products are increasingly unacceptable due to their low selectivity and toxicity. On the other hand, biological control of mealybugs has also been constrained by different factors. Due to the limitations and constraints of the actual control tactics for mealybug pest management, there is a need for developing more effective, species-specific, and environmentally safe approaches, such as pheromone-based tactics, e.g., matting disruption and lure and kill.

In this study, the response of CM males to pheromone-baited sticky traps of different colours – white, yellow, green, red – was tested. Field essays were carried out in citrus orchards in the south of Portugal (Algarve). The four trap modalities were fixed in the angles of a wire squared structure. A pheromone dispenser (100µg) was installed in the structure, 30cm far from each trap. Each device was hung in the SE sector of tree canopy. The choice rates were registered. In laboratory experiments colour tests were performed in a plexiglass maze, with a central arena connecting with eight periferical chambers. Two sets of coloured papers were attached symmetrically on the side walls of each chamber. The flight chamber was placed under a lamp of metallic iodites, which provides a quality of light similar to the one provided by the sunlight, in the visible spectrum. One experiment was conducted, in the morning (8:00-10:00), with adult male originated from a CM colony obtained from field collected infested fruits and kept in laboratory ($24,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, $50 \pm 0,5\%\text{HR}$, natural photoperiod) up two generations. The other two experiments were conducted, in different periods of the day (8:00-10:00; 16:00-18:00), on laboratory-reared adult males ($24,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, $52,0 \pm 0,5\%\text{HR}$, 00L:24D) originated from a field collected colony and kept in laboratory up to 28 generations. At the end of each test, the choice rates were registered.

The attractiveness of pheromone baited traps with two different silhouettes (circle and square), with the same area (225cm^2), was tested using traps of two colours (red and yellow).

For each colour, pairs of the two silhouette-traps were placed at tree canopy. A pheromone dispenser was installed 30 cm from the two traps.

The study of the internal morphology of the eyes was carried out using Transmission Electron Microscopy (TEM).

The red traps were significantly more attractive than the yellow traps in all field and laboratory experiments. The green and yellow traps were significantly different, and the white traps were, generally, associated with intermediate level of captures.

In laboratory experiments, the males from the two first generations of the population collected in Tavira showed higher flight activity, suggesting that rearing conditions may favour the reproduction of males with low flight performance.

CM males, apparently, are not able to distinguish between circular and squared trap silhouettes.

In field experiments, the traps positioned on the left side of the trap device showed significantly higher male captures as a result of the effect of wind direction.

The adult males of CM have an unusual visual system, consisting of three pairs of simple eyes positioned around the head, in a same plan. One pair is located dorsolaterally where most adult insects have their compound eyes. Another pair is placed ventrally, where insects usually have their mouthparts. The third pair is positioned laterally. The three pairs of eyes are very similar and they have great resemblance with dorsal eyes. They differ in lens size (bigger in the ventral pair and smaller in the lateral one), and by the presence of protuberances in the lens surface in the dorsal and ventral pairs, which are known to reduce light reflection and increase light transmission. Internally, ventral eyes can be differentiated from dorsal and lateral eyes for the thicker layer of photoreceptors and pigment cells and for the photoreceptor cells orientation. These characteristics suggest that ventral eyes are more light-sensitive, with better resolution.

The information collected from the behavioural tests suggests that the use of red colour (visual stimuli) in combination with CM pheromone (chemical stimuli) can enhance the performance of pheromone-baited devices, aimed at improving the efficiency of actual monitoring systems, as well as and developing new management tactics, such as “lure and kill” and “mass trapping”. The internal morphology of the eyes suggests that CM males can use other visual information than the composition of the visible spectrum, namely, ultraviolet wavelengths and/or polarized light.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	i
ÍNDICE DE QUADROS.....	iv
I. INTRODUÇÃO	1
Objectivos	3
II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
1. Caracterização sumária da espécie em estudo, <i>Planococcus citri</i> (Risso).....	4
1.1. Posição sistemática e nomes vulgares	4
1.2. Morfologia	4
1.3. Distribuição geográfica, hospedeiros e importância económica	5
1.4. Principais aspectos da biologia dos machos de <i>P. citri</i>	6
1.5. Táticas e estratégias de protecção	7
2. Principais aspectos sobre a visão dos insectos.....	9
2.1. Definição e base química da visão.....	9
2.2 Visão cromática	10
2.2.1. Definição	10
2.2.2. Requisitos	11
2.2.3. Factores que determinam a cor percebida	12
i) Características da luz incidente.....	12
ii) Natureza física da superfície	13
iii) Estrutura molecular dos pigmentos visuais.....	13
iv) Processamento da informação visual a nível neurológico	16
2.2.4. Mecanismos de contraste cromático utilizados pelos insectos	16
2.3. Os órgãos de visão dos insectos	17
2.3.1. Ocelos laterais ou <i>stemmata</i>	20
2.3.2. Ocelos dorsais	20
2.3.3. Olhos compostos	21
2.3.4. Olhos atípicos.....	22
2.4. Caracterização morfológica dos órgãos de visão dos machos adultos de <i>Planococcus citri</i> (Risso)	24
2.5. Sensibilidade espectral dos machos adultos de <i>Planococcus citri</i> (Risso): estado da arte.....	26

III. MATERIAIS E MÉTODOS	27
1. Criação de machos de <i>Planococcus citri</i> (Risso)	27
2. Caracterização das parcelas experimentais	28
3. Ensaio experimentais	28
3.1. Influência da cor da armadilha sexual na atracção dos machos adultos de <i>Planococcus citri</i> (Risso)	28
3.1.1. Ensaio de campo	29
3.1.2. Ensaio em condições controladas de laboratório	30
3.1.2. Análise estatística	32
3.2. Influência da forma da armadilha sexual na atracção dos machos adultos de <i>Planococcus citri</i> (Risso)	33
3.2.1. Ensaio de campo	33
3.2.2. Análise estatística	34
4. Estudo da morfologia interna dos órgãos de visão dos machos adultos de <i>Planococcus citri</i> (Risso) através da Microscopia Electrónica de Transmissão	35
IV. RESULTADOS	39
1. Influência da cor da armadilha sexual na atracção dos machos adultos de <i>Planococcus citri</i> (Risso)	39
1.1. Ensaio de campo	39
1.2. Ensaio em condições controladas de laboratório	42
2. Influência da forma da armadilha sexual na atracção dos machos adultos de <i>Planococcus citri</i> (Risso)	46
3. Estudo da morfologia interna dos órgãos de visão dos machos adultos de <i>Planococcus citri</i> (Risso) através da Microscopia Electrónica de Transmissão	50
IV. DISCUSSÃO	56
1. Influência da cor da armadilha sexual na atracção dos machos adultos de <i>Planococcus citri</i> (Risso)	56
1.1. Preferência pelas armadilhas vermelhas verificada nos ensaios de campo e de laboratório	56
1.2. Contraste no intervalo da radiação visível (400-700nm)	58
1.3. Hipótese da existência de um ritmo circadiano endógeno	59
1.4. Capacidade de voo dos machos adultos de <i>P. citri</i> testados em laboratório	59
2. Influência da forma da armadilha sexual na atracção dos machos adultos de <i>Planococcus citri</i> (Risso)	60

2.1. Efeito da posição das placas no dispositivo no ensaio da cor e da forma-----	60
3. Morfologia interna dos órgãos de visão dos machos adultos de <i>Planococcus citri</i>	
(Risso) -----	61
4. Considerações finais-----	64
4.1. Contraste no intervalo da radiação ultravioleta (320-400nm)-----	65
4.2. Polarização-----	65
V. CONCLUSÕES-----	67
VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----	69
VII. ANEXOS -----	78
Anexo 1 - Representação da casualização do ensaio de campo COR/FORMA instalado na parcela da Quinta do Ó, em Silves, segundo um sistema de casualização total, entre 18 e 26 de Julho de 2007, e das densidades de machos de <i>Planococcus citri</i> (Risso) capturados em cada placa cromotrópica adesiva -----	79
Anexo 2 - Representação da casualização do ensaio de campo COR/FORMA instalado na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT), segundo um sistema de blocos casualizados, entre 12 e 19 de Setembro de 2007, e das densidades de machos de <i>Planococcus citri</i> (Risso) capturados em cada placa cromotrópica adesiva-----	80
Anexo 3 - Representação da casualização do ensaio de campo COR/FORMA instalado na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT), segundo um sistema de blocos casualizados, entre 16 e 30 de Julho de 2008, e das densidades de machos de <i>Planococcus citri</i> (Risso) capturados em cada placa cromotrópica adesiva-----	81
Anexo 4 - Registo do número de machos de <i>Planococcus citri</i> (Risso) capturados em cada modalidade (verde, vermelho, branco, amarelo), nas 20 repetições do ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de <i>Planococcus citri</i> (Risso)” realizado em condições controladas, no período da manhã (8:00-9:00), com a população de Silves, criada em câmara climatizada na ausência de fotoperíodo -----	82
Anexo 5 - Registo do número de machos de <i>Planococcus citri</i> (Risso) capturados em cada modalidade (verde, vermelho, branco, amarelo), nas 20 repetições do ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de <i>Planococcus citri</i> (Risso)” realizado em condições controladas, no período da tarde (16:00-18:00), com a população de Silves, criada em câmara climatizada na ausência de fotoperíodo -----	82
Anexo 6 - Registo do número de machos de <i>Planococcus citri</i> (Risso) capturados em cada modalidade (verde, vermelho, branco, amarelo), nas 20 repetições do ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de <i>Planococcus citri</i> (Risso)” realizado em condições controladas, no período da manhã (8:00-9:00), com a população de Tavira (CEAT) criada com exposição ao fotoperíodo natural-----	82
Anexo 7 - Análise estatística dos resultados do ensaio de campo “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de <i>Planococcus citri</i> (Risso)” realizado entre 18 e 26 de Julho de 2007, segundo um sistema de casualização total, na parcela da Quinta do Ó, em Silves -----	83
Anexo 8 - Análise estatística dos resultados do ensaio de campo “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de <i>Planococcus citri</i> (Risso)” realizado entre 12 e 19 de Setembro de	

2007, segundo um sistema de blocos casualizados, na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT)-----84

Anexo 9 - Análise estatística dos resultados do ensaio de campo “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizado entre 16 e 30 de Julho 2008, segundo um sistema de blocos casualizados, na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT)-----85

Anexo 10 - Análise estatística da influência da posição das placas cromotrópicas adesivas no dispositivo de arame (esquerda superior, esquerda inferior, direita superior, direita inferior) utilizado no ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizado entre 12 e 19 de Setembro de 2007, segundo um sistema de blocos casualizados, na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT) -----86

Anexo 11 - Análise estatística da influência da posição das placas cromotrópicas adesivas no dispositivo de arame (esquerda superior, esquerda inferior, direita superior, direita inferior) utilizado no ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizado entre 16 e 30 de Julho 2008, segundo um sistema de blocos casualizados, na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT)-----87

Anexo 12 - Análise estatística dos resultados das 20 repetições do ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizadas em condições controladas de laboratório, no período da manhã (8:00-9:00), com a população de Silves, criada em câmara climatizada na ausência de fotoperíodo-----88

Anexo 13 - Análise estatística dos resultados das 20 repetições do ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizadas em condições controladas de laboratório, no período da tarde (16:00-18:00), com a população de Silves, criada em câmara climatizada na ausência de fotoperíodo-----89

Anexo 14 - Análise estatística dos resultados das 40 repetições do ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizadas em condições controladas de laboratório com a população de Silves, criada em câmara climatizada na ausência de fotoperíodo (20 ensaios da manhã + 20 ensaios da tarde) -----90

Anexo 15 - Análise estatística dos resultados das 20 repetições do ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizadas em condições controladas de laboratório, no período da manhã (8:00-9:00), com a população do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT), mantida com fotoperíodo natural-----91

Anexo 16 - Análise estatística do tipo de locomoção utilizado pelos machos de *Planococcus citri* (Risso) nas respostas cromáticas observadas nas 20 repetições do ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizadas em condições controladas, no período da manhã (8:00-9:00), com a população de Silves, criada em câmara climatizada na ausência de fotoperíodo -----92

Anexo 17 - Análise estatística do tipo de locomoção utilizado pelos machos de *Planococcus citri* (Risso) nas respostas cromáticas observadas nas 20 repetições do ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizadas em condições controladas, no período da tarde (16:00-18:00), com a população de Silves, criada em câmara climatizada na ausência de fotoperíodo -----93

Anexo 18 - Análise estatística do tipo de locomoção utilizado pelos machos de *Planococcus citri* (Risso) nas respostas cromáticas observadas nas 20 repetições do ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizadas em condições

controladas, no período da manhã (8:00-10:00), com a população do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT), mantida com fotoperíodo natural -----94

Anexo 19 - Análise estatística dos resultados do ensaio de campo “Influência da FORMA da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizado entre 18 e 26 de Julho de 2007, segundo um sistema de casualização total, na parcela da Quinta do Ó, em Silves-----95

Anexo 20 - Análise estatística dos resultados do ensaio de campo “Influência da FORMA da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizado entre 12 e 19 de Setembro de 2007, segundo um sistema de blocos casualizados, na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT)-----96

Anexo 21 - Análise estatística dos resultados do ensaio de campo “Influência da FORMA da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizado entre 16 e 30 de Julho 2008, segundo um sistema de blocos casualizados, na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT)-----97

Anexo 22 - Análise estatística da influência da posição das placas cromotrópicas adesivas no dispositivo de arame (esquerda, direita) utilizado no ensaio “Influência da FORMA da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizado entre 12 e 19 de Setembro de 2007, segundo um sistema de blocos casualizados, na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT)-----98

Anexo 23 - Análise estatística da influência da posição das placas cromotrópicas adesivas no dispositivo de arame (esquerda, direita) utilizado no ensaio “Influência da FORMA da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizado entre 16 e 30 de Julho 2008, segundo um sistema de blocos casualizados, na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT)-----99

Anexo 24 - Análise estatística da influência da cor das armadilhas sexuais utilizadas no ensaio da FORMA, no número de machos de *Planococcus citri* (Risso) capturados no ensaio realizado entre 12 e 19 de Setembro de 2007, segundo um sistema de blocos casualizados, na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT)----- 100

Anexo 25 - Análise estatística da influência da cor das armadilhas sexuais utilizadas no ensaio da FORMA, no número de machos de *Planococcus citri* (Risso) capturados no ensaio realizado entre 16 e 30 de Julho 2008, segundo um sistema de blocos casualizados, na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT)----- 101

Anexo 26 - Dados agrometeorológicos registados pela Estação Meteorológica automática de Norinha (Silves) (Lt(N): 37°12'19,6''; Lg(W): 08°24'22,7''), no período de 18 a 26 de Julho de 2007 (Fonte: DRAALG)----- 102

Anexo 27 - Dados agrometeorológicos registados pela Estação Meteorológica automática de Tavira (Lt(N): 27°06'54,2''; Lg(W): 07°39'20,6''), no período de 12 a 19 de Setembro de 2007 (Fonte: DRAALG)----- 102

Anexo 28 - Dados agrometeorológicos registados pela Estação Meteorológica automática de Tavira (Lt(N): 27°06'54,2''; Lg(W): 07°39'20,6''), no período de 12 a 19 de Setembro de 2007 (Fonte: DRAALG)----- 103

Anexo 29 - Protocolo para preparação dos reagentes utilizados na preparação das amostras para Microscopia Electrónica de Transmissão (TEM)----- 104

Anexo 30 - Curvas de reflectância das placas de polipropileno alveolar vermelhas, amarelas e brancas, utilizadas em 2005, por Antunes e Lemos, no estudo da influência da cor na actividade de voo dos machos de *Planococcus citri* (Risso) e *Planococcus ficus* (Signoret), respectivamente, e das placas utilizadas em 2006, por Pinto no estudo do efeito de factores de natureza visuais na atracção dos machos relativamente a fontes de feromona Copiado, sem alterações, do ficheiro enviado de Israel-106

Anexo 31 - Curvas de reflectância de sete placas de polipropileno alveolar. Copiado, sem alterações, do ficheiro enviado de Israel----- 106

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig.1 - Adultos de *Planococcus citri* (Risso) (da esquerda para a direita): fêmea áptera com o corpo marginado por projecções cerosas (cerários); macho alado, com um par de asas bem desenvolvidas; diferença de dimensão entre a fêmea e o macho adultos----- 4

Fig.2 - São necessários pelo menos dois pigmentos visuais para a visão cromática. (a) Com apenas um pigmento, a resposta de um receptor a um determinado comprimento de onda (cdo) depende da intensidade luminosa (I); 50% de resposta pode ser induzida por qualquer uma das combinações indicadas pelas setas. (b) Com dois pigmentos visuais o rácio da estimulação (A/B ou C/D) é específico para um determinado comprimento de onda, independentemente da intensidade (Land & Nilsson 2002) ----- 11

Fig.3 - Corte longitudinal de um ocelo lateral, ou *stemmata*, de uma larva de lepidóptero (à esquerda); de um ocelo dorsal de um insecto adulto (ao centro) e de um omatídeo de um olho composto (de aposição) (adaptado de Gullan & Cranston 1994) ----- 18

Fig.4 - Secção transversal de omatídeos: rabdoma aberto da *Drosophila* (à esquerda) e rabdoma fechado da *Apis* (à direita) (adaptado de Chapman 1972) ----- 19

Fig.5 - Localização relativa dos três pares de olhos simples do macho adulto de *Planococcus citri* (Risso): olho ventral (V); olho dorsal (D); olho lateral (L). Imagens de Microscopia Electrónica de Varrimento (Elsa Borges da Silva e Telmo Antunes) ----- 24

Fig.6 - Olhos simples ventrais do macho adulto de *Planococcus citri* (Risso) (da esquerda para a direita): par ventral; olho ventral; pormenor da córnea do olho ventral. Imagens de Microscopia Electrónica de Varrimento (Elsa Borges da Silva e Telmo Antunes). ----- 25

Fig.7 - Olhos simples dorsais do macho adulto de *Planococcus citri* (Risso) (da esquerda para a direita): par dorsal; olho dorsal; pormenor da córnea do olho dorsal. Imagens de Microscopia Electrónica de Varrimento (Elsa Borges da Silva e Telmo Antunes) ----- 25

Fig.8 - Olho simples lateral do macho adulto de *Planococcus citri* (Risso). Imagem de Microscopia Electrónica de Varrimento (Elsa Borges da Silva e Telmo Antunes). ----- 25

Fig.9 - Fotografia e esquema do dispositivo metálico (21,2cm x 21,2cm) utilizado, em cada bloco casualizado, na verificação da hipótese do contraste visual na resposta dos machos de *Planococcus citri* (Risso) na localização a curta distância de fontes de feromona sexual. O difusor com 100µg de feromona sexual de síntese foi fixado no centro da estrutura a cerca de 30cm do centro de cada uma das quatro placas cromotrópicas adesivas (verde, vermelho, branco e amarelo; raio = 8,46cm)----- 30

Fig.10 - Dispositivo, em acrílico, utilizado nos ensaios de preferência cromática dos machos de *Planococcus citri* (Risso), realizados em condições controladas de laboratório. Dispositivo com 30cm de altura. Arena central com 30cm de diâmetro com ligação a oito secções de 15cm de comprimento por 11,5cm de largura, forradas com placas de polipropileno alveolar coloridas (verde, vermelho, branco, amarelo)----- 30

Fig.11 - Dispositivo de iluminação utilizado nos ensaios de preferência cromática dos machos de *Planococcus citri* (Risso), realizados em condições controladas de laboratório: lâmpada de multivapores (iodetos) metálicos, de 70W (Powerball HCI-T) ----- 31

Fig.12 - Dispositivos utilizados na verificação da hipótese dos machos de *Planococcus citri* (Risso) serem capazes de diferenciar diferentes silhuetas no processo de localização a curta distância de fontes de feromona sexual. O difusor com 100µg de feromona sexual de síntese foi fixado no centro da

estrutura, a 30cm do centro de cada uma das duas armadilhas cromotrópicas adesivas (quadrada, redonda; área=225cm²) -----33

Fig.13 - Colheita do material biológico e fixação das amostras: destacamento das cabeças de machos de *Planococcus citri* (Risso) (à esquerda); troca de soluções dos frascos com as amostras – passo comum na fixação, pós-fixação, desidratação e impregnação (à direita) -----36

Fig.14 - Inclusão das amostras (da esquerda para a direita): molde de EPON com dois poços carregados; inclusão das amostras no EPON; estufa a 60°C onde foram mantidos, durante três dias, os moldes de EPON carregados e identificados para polimerização/solidificação da resina -----37

Fig.15 - Corte das amostras (da esquerda para a direita): EPON polimerizado talhado em pirâmide com face de corte trapezoidal; corte de uma amostra no ultramicrotomo; preparações dos cortes semi-finos (100nm) para microscópio óptico -----37

Fig.16 - Contrastação das amostras (da esquerda para a direita): material utilizado na etapa de contração; grelha (3mm de diâmetro, 150mesh) com os cortes; suporte para grelhas-----38

Fig.17 - Observação das amostras no microscópio electrónico de transmissão -----38

Fig.18 - Influência da cor da armadilha sexual (verde, vermelho, branco, amarelo) no número de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso) (média + erro padrão) capturados entre 18 e 26 Julho de 2007, na parcela da Quinta do Ó, em Silves. Não existem diferenças significativas entre barras gráficas com letras iguais ($p = 0,05$) -----39

Fig.19 - Influência da cor da armadilha sexual (verde, vermelho, branco, amarelo) na proporção de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso) (média + erro padrão) capturados em cada bloco, entre 12 e 19 de Setembro de 2007 e entre 16 e 30 de Julho de 2008, na parcela de CEAT, em Tavira. Não existem diferenças significativas entre barras gráficas com letras iguais (SNK, $p=0,05$) -----40

Fig.20 - Influência da posição da armadilha sexual no dispositivo (esquerda superior, esquerda inferior, direita superior, direita inferior) na proporção de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso) (média + erro padrão) capturados, independentemente da cor das armadilhas, entre 12 e 19 de Setembro de 2007 e entre 16 e 30 de Julho de 2008, na parcela de CEAT, em Tavira. Não existem diferenças significativas entre barras gráficas com letras iguais (SNK, $p=0,05$) -----41

Fig.21 - Influência da cor da armadilha (verde, vermelho, branco, amarelo) na proporção de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso) (média + erro padrão) capturados nos 20 ensaios realizados de manhã e nos 20 ensaios realizados de tarde com a população de Silves, criada em câmara climatizada com fotoperíodo 00L:24E. Não existem diferenças significativas entre barras gráficas com letras iguais (SNK, $p=0,05$) -----43

Fig.22 - Influência da cor da armadilha (verde, vermelho, branco, amarelo) na proporção de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso) (média + erro padrão) capturados nos 20 ensaios de laboratório com a população de CEAT, criada com exposição ao fotoperíodo natural, e nos 40 ensaios de laboratório (20 ensaios de manhã + 20 ensaios de tarde) com a população de Silves, criada em câmara climatizada com fotoperíodo 00L:24E. Não existem diferenças significativas entre barras gráficas com letras iguais (SNK, $p=0,05$) -----44

Fig.23 - Tipo de locomoção utilizado pelos machos adultos de *Planococcus citri* (Risso) (voo, marcha) nas respostas cromáticas (verde, vermelho, branco, amarelo), nos três tipos de ensaios realizados em condições controladas (Silves manhã, Silves tarde, Tavira manhã)-----45

Fig.24 - Influência da forma das armadilha sexual (Q - quadrada, C - circular) no número de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso) (média + erro padrão) capturados nas duas cores estudadas (am -

amarelo, vm - vermelho), entre 18 e 26 de Julho de 2007, na parcela da Quinta do Ó, em Silves. Não existem diferenças significativas entre barras gráficas com letras iguais ($p=0,05$). -----46

Fig.25 - Influência da forma da armadilha sexual (Q - quadrada, C - circular) na proporção de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso) (média + erro padrão) capturados, para as duas cores estudadas (am - amarelo, vm - vermelho), entre 12 e 19 de Setembro de 2007 e entre 16 e 30 de Julho de 2008, na parcela de CEAT, em Tavira. Não existem diferenças significativas entre as barras gráficas com letras iguais (teste t, $p=0,05$)-----47

Fig.26 - Influência da posição da armadilha sexual no dispositivo experimental (esquerda, direita) na proporção de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso) (média + erro padrão) capturados, independentemente da forma e da cor das armadilhas, entre 12 e 19 de Setembro de 2007 e entre 16 e 30 de Julho de 2008, na parcela de CEAT, em Tavira. Não existem diferenças significativas entre as barras gráficas com letras iguais (teste t, $p=0,05$)-----48

Fig.27 - Influência da cor da armadilha sexual (amarelo, vermelho) utilizada no ensaio da forma no número de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso) (média + erro padrão) capturados em cada bloco, entre 12 e 19 de Setembro de 2007 e entre 16 e 30 de Julho de 2008, na parcela de CEAT, em Tavira. Não existem diferenças significativas entre barras gráficas com letras iguais (teste t, $p=0,05$) 49

Fig.28 - Imagem de microscopia óptica de um corte longitudinal semifino ($10\mu\text{m}$) da cabeça de um macho adulto de *Planococcus citri* (Risso), evidenciando os três tipos de olhos simples: olho dorsal (D), olho ventral (V) e olho lateral (L). A linha branca tracejada representa o eixo de simetria da cabeça do macho. As circunferências brancas tracejadas representam a localização dos olhos que não foram incluídos no corte (Leonor Campos e Marisa Pardal) ----- 50

Fig.29 - Pormenores da Fig.28. Da esquerda para a direita: olho dorsal; olho ventral; olho lateral. Células fotoreceptoras (V); células pigmentares (P) (Leonor Campos e Marisa Pardal)----- 51

Fig.30 - Imagens de Microscopia Electrónica de Transmissão de cortes longitudinais ultrafinos (100nm) dos olhos simples de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso). Dimensão relativa das lentes (L) dos três tipos de olhos (da esquerda para a direita): olho dorsal; olho ventral; olho lateral. Distinguem-se as protuberâncias da superfície da córnea do olho dorsal e ventral, e quatro tipos de células: células corneanas (C); células fotoreceptoras (F); e dois tipos de células pigmentares (P_1 e P_2) (Leonor Campos e Marisa Pardal) ----- 51

Fig.31 - Imagens de Microscopia Electrónica de Transmissão de cortes longitudinais ultrafinos (100nm) de um olho dorsal (à esquerda e ao centro) e de um olho ventral (à direita) de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso). Arranjo dos diferentes grupos celulares em torno da lente (L): células corneanas (C); células fotoreceptoras (F); e dois tipos de células pigmentares (P_1 e P_2) (Leonor Campos e Marisa Pardal)----- 52

Fig.32 - Imagem de Microscopia Electrónica de Transmissão de um corte oblíquo ultrafino (100nm) de um olho lateral. Organização dos diferentes tipos celulares associados ao processamento da informação visual, em relação à lente (L): células corneanas (C); células fotoreceptoras (F); os dois tipos de células pigmentares (P_1 e P_2) e os axónios das células visuais (A). As setas indicam a membrana basal, que delimita a zona sináptica (S). (Leonor Campos e Marisa Pardal) ----- 53

Fig.33 - Imagem de Microscopia Electrónica de Transmissão de um corte oblíquo ultrafino (100nm) de um olho lateral de um macho adulto de *Planococcus citri* (Risso). Axónios das células visuais (A_1) que atravessam a membrana basal do olho e que terminam na zona sináptica (S), mesmo atrás do olho, onde transmitem os impulsos nervosos às dendrites de neurónios de segunda ordem. Daí partem os axónios dos neurónios de segunda ordem (A_2) (Leonor Campos e Marisa Pardal) ----- 53

Fig.34 - Imagem de Microscopia Electrónica de Transmissão de dois cortes longitudinais ultrafinos (100nm) de olhos dorsais de machos adultos de <i>Planococcus citri</i> (Risso). Dois tipos de células pigmentares (P ₁ e P ₂), comuns aos três tipos de olhos (Leonor Campos e Marisa Pardal)-----	54
Fig.35 - Imagens de Microscopia Electrónica de Transmissão de dois cortes longitudinais ultrafinos (100nm) dos olhos de machos adultos de <i>Planococcus citri</i> (Risso). Diferença entre o arranjo e/ou orientação das células fotoreceptoras dos olhos ventrais (à esquerda) e dos olhos dorsais e laterais (à direita). Células corneanas (C); células visuais (V); células fotoreceptoras - rabdomas (R); rabdómeros (r), células pigmentares convergentes (P1) (Leonor Campos e Marisa Pardal)-----	55
Fig.36 - Pormenores da Fig.35, evidenciando a organização dos <i>microvilli</i> , justapostos, todos com a mesma orientação, dos olhos ventrais (à esquerda) e dos olhos dorsais e laterais (à direita) -----	55
Fig.37 - Imagem de Microscopia Electrónica de Transmissão de um corte longitudinal ultrafino (100nm) da lente de um olho dorsal de um macho adulto de <i>Planococcus citri</i> (Risso), evidenciando a existência de protuberâncias na superfície da córnea (Leonor Campos e Marisa Pardal)-----	55
Fig.38 - Rabdómeros dos <i>stemmata</i> atípicos das larvas de <i>Cicindela</i> , distribuídos por toda a periferia das células visuais: esquema da secção transversal dos rabdomas (à esquerda), representação tridimensional da organização das células visuais (adaptado de Chapman 1996a) -----	61
Fig.39 - Representação esquemática da dimensão relativa, forma e arranjo dos rabdómeros formando o rabdoma, dos olhos ventrais (à esquerda) e dos olhos dorsais e laterais (à direita) -----	62

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1 - Percepção humana dos comprimentos de onda (cdo) da banda visível do espectro (adaptado de Land & Nilsson 2002 e de Meyer 2006)-----	10
Quadro 2 - Caracterização das parcelas experimentais-----	28
Quadro 3 - Frequência absoluta de cada modalidade das armadilhas sexuais cromotrópicas (verde, vermelho, branco, amarelo) em cada uma das quatro posições do dispositivo experimental (esquerda superior, esquerda inferior, direita superior, direita inferior) nos ensaios realizados em Setembro de 2007 e em Julho de 2008 -----	42

I. INTRODUÇÃO

Nas últimas quatro décadas, em resposta à cada vez maior preocupação em reduzir a utilização de pesticidas de largo espectro de acção, tem-se assistido ao interesse crescente na manipulação do comportamento de pragas em protecção de plantas (Carvalho 1986, Gould 1991, Foster & Harris 1997, Antignus *et al.* 2001a).

Os insectos (à semelhança de todos os animais) mantêm-se vivos através da acumulação da energia que captam do seu ambiente, o que requer a aquisição contínua de informação através dos seus sistemas sensoriais (Bell 1990, Stavenga 2006). Os estímulos externos são, por isso, os mais susceptíveis de serem manipulados (Foster & Harris 1997). Dentro desta categoria, os estímulos químicos são os de utilização mais generalizada, devido ao seu envolvimento em muitos comportamentos dos insectos (Bell & Cardé 1984, 1995). Contrariamente ao trabalho desenvolvido sobre os estímulos químicos, a investigação dos estímulos visuais tendo em vista a manipulação comportamental de insectos tem sido escassa. Esta realidade deve-se, em parte, à falta de especificidade de muitos estímulos visuais envolvidos nos comportamentos (Foster & Harris 1997). No entanto, de acordo com Stavenga (2006), o sistema visual constitui o principal instrumento sensorial de muitos animais, incluindo muitas espécies de insectos com relevância agrícola, desempenhando importante papel na localização de recursos alimentares e de parceiros para acasalamento (Döring & Chittka 2007). Antignus *et al.* (2001a) reconhece a luz (composição espectral e polarização) como o principal factor utilizado pelos insectos na comunicação com o seu ambiente e na orientação em relação aos seus hospedeiros (e.g., navegação, procura, alimentação, selecção de hospedeiros). Um exemplo de manipulação de um estímulo visual implementado com êxito em protecção de plantas consiste na aplicação de materiais fotoselectivos para os UV (comummente o polietileno, menos frequente o PVC e o policarbonato) na cobertura de estufas para o controlo de insectos transmissores de vírus (e.g., mosquinha-branca, afídeos, tripses) (Antignus *et al.* 1996, 2001a, b). Outros estímulos visuais utilizados pelos insectos na localização de hospedeiros incluem a forma/silhueta, a dimensão e o contraste dos objectos-alvo (Prokopy & Owens 1983, Döring & Chittka 2007).

Com os conhecimentos actuais, tem-se vindo a valorizar a utilização combinada de estímulos visuais (e.g., cor, luz, forma) com estímulos químicos (e.g., semioquímicos), com o objectivo de incrementar a eficácia em relação à utilização de apenas um estímulo (e.g., armadilhas sexuais) (Foster & Harris 1997, Carvalho 1986). Diversos estudos foram desenvolvidos com dípteros da família Tephritidae utilizando modelos que mimetizam as

características visuais dos frutos hospedeiros (Cytrynowicz *et al.* 1982, Katsoyannos 1989, Katsoyannos & Kouloussis 2001, Drew *et al.* 2003, Brévault & Quilici 2007). Um caso de êxito desta abordagem foi implementado na América do Norte na monitorização e redução da densidade populacional de fêmeas de *Rhagoletis pomonella* (Walsh) em pequenos pomares de macieiras, através da utilização de esferas vermelhas mimetizando maçãs, com incremento da eficiência e especificidade conseguida por adição de compostos voláteis específicos (Reissig *et al.* 1982, 1985, Reynolds & Prokopy 1997, Zhang *et al.* 1999).

A cochonilha-algodão dos citrinos, *Planococcus citri* (Risso), é uma espécie cosmopolita e polífaga. Em Portugal, pode assumir estatuto de praga-chave ou ocasional dos citrinos. No entanto, não se dispõe ainda de um método eficaz e sustentável para a protecção das culturas atacadas. Surge, assim, o interesse em desenvolver novas tácticas de protecção, selectivas e com menor impacte ambiental, com base na manipulação comportamental.

O período de vida efectivo dos machos de *P. citri* restringe-se, no máximo, a cerca de 12 horas (as primeiras quatro horas de luz do dia durante um máximo de três manhãs), durante as quais o único objectivo é a localização de fêmeas e o acasalamento. Esta restrição de tempo exige a existência de um processo muito eficiente de localização de fêmeas virgens. Os machos adultos de *P. citri*, à semelhança da generalidade das espécies pertencentes às famílias Coccidae, Diaspididae, Eriococcidae e Pseudococcidae, apresentam órgãos visuais atípicos (Gulan & Kosztarab 1997). Desconhece-se a sua morfologia interna e função.

A capacidade de voo dos machos, a distribuição dos olhos no mesmo plano da cabeça, formando um anel de visão horizontal durante o voo, a existência de lóbulos ópticos proeminentes no seu cérebro (EB Silva com pess 2007) e o diferente tipo de trajectória a longa e a curta distância de fêmeas, sugerem a utilização de informação visual na localização das fêmeas.

Objectivos:

No presente estudo investigou-se a resposta comportamental dos machos adultos de *P. citri* a diferentes estímulos visuais, tendo como objectivo geral averiguar a natureza e a importância desses estímulos na localização, pelos machos, de fontes de feromona (fêmeas virgens ou difusores de feromona sintética), com vista à sua eventual manipulação em combinação com estímulos de natureza química (feromona sexual de síntese), de modo a otimizar os actuais sistemas de monitorização e o desenvolvimento de novas tácticas de protecção biotécnica, como a “atração e morte” e a “captura em massa”. Segundo Prokopy & Owens (1983), a forma como os animais resolvem problemas visuais comuns é melhor

entendida quando os dados do meio ambiente físico são combinados com dados do comportamento animal e da morfologia e fisiologia dos sistemas visuais. Assim, com o objectivo de reunir informação de diferentes tipos de abordagens, a avaliação da resposta comportamental dos machos adultos de *P. citri* a estímulos visuais baseou-se em ensaios de campo, em ensaios desenvolvidos em condições controladas de laboratório e na caracterização da morfologia interna dos três pares de olhos através de Microscopia Electrónica de Transmissão (MET).

Neste contexto, consideraram-se os seguintes objectivos específicos:

- (1) determinar se os machos de *P. citri* conseguem discriminar comprimentos de onda da banda visível do espectro (400-700nm);
- (2) avaliar o efeito dos factores forma/silhueta e contraste na atracção dos machos de *P. citri*;
- (3) caracterizar a morfologia interna dos olhos dos machos de *P. citri* recorrendo à MET.

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Caracterização sumária da espécie em estudo, *Planococcus citri* (Risso)

1.1. Posição sistemática e nomes vulgares

P. citri (Risso) pertence à ordem Hemiptera, subordem Sternorrhyncha, superfamília Coccoidea, família Pseudococcidae (Franco *et al.* 2000).

Os nomes vulgares atribuídos aos pseudococcídeos reflectem o aspecto algodinoso dos aglomerados de fêmeas e sacos ovíferos. Surgiram, assim, as designações cochonilhas-algodão, algodões e alforras para a generalidade das espécies desta família e, especificamente para *P. citri*, cochonilha-algodão dos citrinos, bicho algodoeiro, cochonilha algodoeira, cochonilha branca e piolho branco, entre outros (Franco *et al.* 2000).

1.2. Morfologia

Morfologicamente, as cochonilhas estão entre os insectos mais invulgares. Os adultos de *P. citri*, à semelhança de todos os pseudococcídeos, apresentam elevado dimorfismo sexual (Fig.1).



Fig.1 – Adultos de *Planococcus citri* (Risso) (da esquerda para a direita): fêmea áptera com o corpo marginado por projecções cerosas (cerários); macho alado, com um par de asas bem desenvolvidas; diferença de dimensão entre a fêmea e o macho.

As fêmeas são neoténicas, evidenciando, por isso, características morfológicas semelhantes às das ninfas. Apresentam, em geral, corpo de forma oval, achatado dorsoventralmente, com 1,6-3,5mm de comprimento, coberto por partículas cerosas. São ápteras e não apresentam cabeça, tórax e abdómen bem definidos. O corpo é, normalmente, marginado por projecções cerosas, 18 pares no género *Planococcus*, em regra maiores na região posterior. As antenas apresentam 8 artículos. Pelo contrário, os machos são imagos típicos, alados, com as três regiões do corpo (cabeça, tórax e abdómen) bem definidas. O corpo é estreito e alongado, com 0,9-1,0mm de comprimento e 0,2-0,3mm de largura, com asas mesotorácicas bem desenvolvidas e asas metatorácicas transformadas em hamulo-

halteres. As antenas, filiformes, são constituídas por 10 artículos. Os adultos emergem com armadura bucal não funcional (Miller & Kosztarab 1979, Katsoyannos 1996, Kosztarab 1996, Smith *et al.* 1997, Gullan & Kostzarab 1997, Franco *et al.* 2000, Gulan & Martin 2003).

1.3. Distribuição geográfica, hospedeiros e importância económica

P. citri é uma espécie cosmopolita, estando referenciada em mais de 90 países, assumindo estatuto de praga-chave ou ocasional em diversos países da Bacia do Mediterrâneo, mas também na África do Sul, Índia, Vietname, Austrália, Califórnia, Texas e Florida (Carvalho *et al.* 1996, Franco *et al.* 2000, 2004b). Em Portugal, é a espécie de cochonilha-algodão mais frequente, em citrinos, no Algarve, encontrando-se também assinalada nos Açores (Fernandes 1981) e na Madeira (Franco 1997). Devido à vasta distribuição da espécie, as hipóteses apresentadas para a sua origem são especulativas. Contudo, dados recentes sugerem que seja originária da África Central (Franco *et al.* 2004b).

É uma espécie polífaga, atacando diversas espécies fruteiras subtropicais e tropicais, plantas ornamentais e inúmeros hospedeiros em estufas (Doutt 1951, Summy *et al.* 1986 Dunkelblum 1999). À escala mundial, estão referidas 146 espécies de plantas hospedeiras distribuídas por 60 famílias (Ben-Dov 1994). As famílias Leguminosae, Solanaceae e Rutaceae englobam, no seu conjunto, mais de 25% das espécies hospedeiras. No entanto, apenas tem assumido estatuto de praga em citrinos, culturas protegidas, cacaueteiro e plantas ornamentais (Franco *et al.* 2000).

Na região central e ocidental do Mediterrâneo, representa uma das principais pragas de laranjeira doce (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), a espécie de citrinos mais cultivada a nível mundial e em Portugal. As cultivares do grupo “Navel” encontram-se entre as mais susceptíveis (Silva 2000, Franco *et al.* 2004b). No Próximo Oriente, ataca principalmente as variedades amarelas de citrinos (e.g., *Citrus paradisi*, *C. grandis* e *C. limon*) (Franco *et al.* 2004b).

A importância de *P. citri* está associada aos estragos que provoca no hospedeiro vegetal através da actividade alimentar e da excreção de melada. Os estragos associados ao processo alimentar traduzem-se em alterações fisiológicas nos órgãos afectados (e.g., aparecimento de manchas cloróticas, descolorações, alterações do crescimento dos tecidos, abscisão de frutinhas recém-vingados, queda prematura de frutos em maturação e de folhas) e na planta (e.g., enfraquecimento). Os estragos associados à melada incluem a acção directa sobre os órgãos fotossinteticamente activos (funciona como barreira física, obstruindo os estomas, reduzindo a taxa fotossintética, a transpiração e a repartição dos fotoassimilados), e as

interacções que se podem estabelecer com outros organismos, nomeadamente lepidópteros carpófagos e determinados fungos saprófitas, vulgarmente designados por fumagina (Katsoyannos 1996, Kosztarab 1996, Franco 1997, Franco *et al.* 2000, Silva 2000).

1.4. Principais aspectos da biologia dos machos de *P. citri*

O ciclo de vida de *P. citri* segue o modelo geral dos pseudococcídeos, descrito por Franco *et al.* (2000). Os machos adultos emergem do casulo sem armadura bucal funcional. O seu período de vida livre é relativamente curto, no máximo, 3-4 dias (Mouco 2006, Silva *et al.* 2008). Em contraste, as fêmeas adultas, quando não fecundadas, podem viver vários meses (Franco 1997).

Quanto ao ciclo biológico de *P. citri*, considera-se a ocorrência de 3-5 gerações por ano em Portugal (Carvalho 1988, Franco 1994, Franco 1997), e 3-4 na generalidade da região Norte do Mediterrâneo (Katsoyannos 1996). Ocorre um período de dormência durante o Inverno e Primavera, no qual os indivíduos se refugiam em locais protegidos (e.g., anfractuosidades do lenho, solo). Em Junho-Julho ocorre a migração de ninfas para os frutos recém-vingados (Franco 1997, Silva 2000).

A actividade de voo dos machos dos pseudococcídeos não é contínua ao longo do dia. Os machos de *Planococcus* têm actividade crepuscular correspondente às primeiras horas de luz do dia (Ortu & Delrio 1982, Moreno *et al.* 1984, Tauber *et al.* 1985, Lemos 2006, Silva *et al.* 2008, Zada *et al.* 2008). Num estudo realizado em Portugal, com *P. citri* (Antunes 2005, Silva *et al.* 2008), obtiveram-se as primeiras capturas entre as 5:00 (escotofase) e as 6:00 (371lux), com valores muito próximos do máximo, alcançado entre as 6:00 e as 7:00 (11290lux), não se tendo registado actividade após as 9:00 (66 700lux). A restrição da actividade de voo às primeiras quatro horas da manhã poderá ser uma adaptação dos machos adultos (organismos poiquilotérmicos, pequena dimensão, armadura bucal não funcional, vida efémera) às condições ambientais (temperatura, humidade relativa, intensidade luminosa), optimizando as reservas de água e energia de que dispõem, o que permitirá aumentar o número de horas disponíveis para a localização de fêmeas e acasalamento.

O comportamento do macho de *P. citri*, no processo de localização da fêmea foi estudado e descrito em pormenor por Moreno *et al.* (1984). Estes autores verificaram que em condições de laboratório, os machos eram capazes de voar distâncias superiores a 1m, atraídos pelas fêmeas (20 fêmeas/armadilha). Observaram que os machos em voo, quando detectavam a feromona, desenhavam trajectórias oscilantes em zig-zag, reduzindo a sua amplitude a aumentando a sua frequência com a aproximação das armadilhas, comportamento evidente a

partir dos 30cm de distância da armadilha. No campo, a distância percorrida pelos machos, na direcção de fêmeas localizadas em armadilhas, foi superior a 183m. Nos ensaios em placa de Petri, verificaram que os machos começavam por se deslocar em trajectórias aparentemente erráticas e não estimuladas que davam lugar a trajectórias direccionadas, a menos de 2cm de distância.

Mouco (2006) avaliou a resposta dos machos de *P. citri*, em função da idade, a fontes de feromona (sexual de síntese ou provenientes de fêmeas virgens). Estabeleceu, para isso, três classes a partir do número de horas desde a emergência (<10h, 10h-29h e >29h). Verificou que nenhum dos machos adultos com menos de 10h manifestou atracção pela feromona e que apenas 18% dos machos com idade compreendida entre 10h e as 29h manifestou comportamento de cópula. Elevada percentagem dos machos com mais de 29h de vida apresentou comportamento de atracção e de tentativa de cópula. Os dados sugerem que, após a emergência, a maioria dos machos de *P. citri* necessita de completar um período de maturação sexual de, pelo menos, 29 horas para poder responder à feromona sexual e acasalar (Mouco 2006, Silva *et al.* 2008). Estes resultados estão em concordância com os obtidos por Tauber *et al.* (1985), que verificou que só os machos de *P. citri* com mais de 27h de vida eram capturados em armadilhas activadas com feromona sexual. Mouco (2006) acompanhou o desenvolvimento dos machos desde o momento da emergência até à sua morte, tendo obtido uma duração máxima de vida (na ausência de acasalamento) de 4,8 dias (115h). Cerca de 50% dos machos apresentaram longevidade inferior a 4,4 dias. Considerando apenas o período em que uma percentagem relevante dos machos se mostrou sexualmente atraída, o tempo máximo que dispõem para localizar uma fêmea e para acasalarem fica reduzido a cerca de 86h (115h-29h), o que corresponde a 3,58 dias. Tendo em conta que os machos dispõem, no máximo, de quatro horas de actividade diária, estima-se que, em condições reais, o tempo total disponível para localizar fêmeas através do voo e acasalar seja inferior a 12 horas (Mouco 2006, Silva *et al.* 2008).

1.5. Tácticas e estratégias de protecção

A táctica de uso mais generalizado no controlo da cochonilha-algodão é a protecção química, nomeadamente através da aplicação de insecticidas de largo espectro de acção, como os organofosforados (Franco 1997, Franco *et al.* 2003, 2004b). No entanto, esta táctica tem-se revelado, com frequência, ineficaz devido ao comportamento críptico destas cochonilhas, que as protege do contacto com os insecticidas, ao revestimento ceroso que dificulta a penetração dos insecticidas e ao desenvolvimento de resistências já registadas em diversas regiões em

relação a organofosforados, nomeadamente em Israel em relação ao clorpirifos (Franco *et al.* 2003, 2004b).

Na protecção biológica de *P. citri* conhecem-se cerca de 70 espécies de predadores e 40 espécies de parasitóides (Blumberg *et al.* 1997). Na Bacia Mediterrânica destacam-se o predador coccinelídeo *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant) e o parasitóide encirtídeo *Leptomastix dactylopii* (Howard) (Franco *et al.* 2000, 2004a, 2004b). Como tácticas de protecção biológica, podem realizar-se largadas aumentativas dos insectos auxiliares ou fomentar a limitação natural, criando condições sustentáveis para a entomofauna auxiliar (Franco *et al.* 2006). Contudo, a acção reguladora dos inimigos naturais não se tem revelado suficientemente eficaz na prevenção de pululações no clima Mediterrânico, onde as condições ambientais favorecem o seu potencial biótico (Blumberg *et al.* 1997, Franco 1997, 2001a, Mendel *et al.* 1999, Franco *et al.* 2003, 2004b). A recuperação dos inimigos naturais de *P. citri* após o Inverno é lenta e insuficiente para prevenir infestações de cochonilhas na Primavera e início de Verão. Os parasitóides apenas atingem elevadas densidades no pico do Verão, quando os estragos das variedades susceptíveis já atingiram um estágio avançado (Franco *et al.* 2004b). A resposta imunitária de *P. citri* através da encapsulação dos ovos dos parasitóides é um factor que condiciona a acção destes inimigos como agentes de limitação natural (Blumberg 1997, Passarinho 2004).

A existência da feromona sexual de *P. citri* foi sugerida em 1968 por Gravitz & Wilson, mas só em 1981 a molécula foi identificada por Bierl-Leonhardt e seus colaboradores como acetato de ciclobutanometanol, (1R-cis)-2,2-dimetil-1-3-(metiletenil). Tauber *et al.* (1985) verificaram a especificidade desta molécula em relação a *P. citri*. A identificação da feromona sexual de *P. citri* (Bierl-Leonhardt *et al.* 1981) e a síntese de compostos análogos (Carlsen & Odden 1984, Dunkelblum *et al.* 1987, 2002, Passaro & Webster 2004) permitiram a preconização de novos métodos de monitorização baseados na utilização de armadilhas sexuais (Ortu & Delrio 1982, Rotundo & Tremblay 1982, Dunkelblum *et al.* 1983, Ortu 1986, Hefetz & Tauber 1990, Franco *et al.* 2001b, 2004b, Zada *et al.* 2004, Millar *et al.* 2005). Ainda não se conseguiu, no entanto, estabelecer uma relação consistente entre as capturas dos machos e a densidade de fêmeas nos frutos (Franco *et al.* 2001b, 2004b), pelo que a monitorização de *P. citri* continua a basear-se na observação directa dos frutos e na contagem de indivíduos. É um processo moroso que não pode ser utilizado para estimar a densidade durante a Primavera antes das cochonilhas se estabelecerem nos frutos (Franco *et al.* 2004a, b). Além da monitorização, a disponibilidade comercial da feromona sexual de *P. citri* oferece uma oportunidade para o desenvolvimento de novas tácticas de protecção, de base mais

ecológica, nomeadamente, a “confusão sexual”, a “captura em massa” e a “atração e morte” (Franco *et al.* 2004b).

O método de “atração e morte” consiste na combinação de um atractivo selectivo (e.g., feromona sexual), com um insecticida, levando à morte dos machos atraídos que contactam com a formulação (Suckling 2000, Amaro 2003). A eficiência deste método depende de factores edafoclimáticos (e.g., temperatura, precipitação, vento, humidade relativa e luminosidade), factores associados à biologia da população em estudo (no caso dos machos de *P. citri*, densidade populacional, estado fisiológico dos machos e actividade de voo) e às características do dispositivo (tipo e concentração do atractivo, cor e forma do suporte) (Ascensão 2002, Antunes 2005).

2. Principais aspectos sobre a visão dos insectos

2.1. Definição e base química da visão

A visão baseia-se na capacidade de distinguir padrões espaciais que são definidos por estímulos físicos (e.g., distribuição espaço-temporal da luz/fotões) (Prokopy & Owens 1983). Segundo Prokopy & Owens (1983), no caso dos insectos voadores, em particular nas espécies diurnas, esta aptidão poderá ter evoluído da necessidade de detecção e reconhecimento de parceiros de acasalamento, a curta distância (poucos centímetros), uma vez que a este nível é requerido um elevado grau de acuidade.

A base química da visão depende da absorção de luz (radiação electromagnética) por pigmentos especiais (pigmentos visuais) localizados nos fotoreceptores (Meyer 2006, Stavenga 2006). Os pigmentos visuais, genericamente designados por rodopsinas, são cromoproteínas constituídas por 380 aminoácidos, um dos quais estabelecendo uma ligação covalente com um isómero sensível à luz, o cromóforo, envolvido por uma molécula proteica, a opsina, também sensível à luz e envolvida no processo de visão cromática (Pichaud *et al.* 1999, Briscoe & Chittka 2001, Land & Nilsson 2002, Stavenga 2006). Estes pigmentos convertem a energia da luz absorvida (energia electromagnética) em energia eléctrica (Carlson & Chi 1979, Chapman 1998b), passível de desencadear um impulso numa célula nervosa (neurónio) (Chapman 1998b, Meyer 2006, Stavenga 2006).

Nos insectos, os pigmentos visuais podem localizar-se na retina dos ocelos laterais, dos olcelos dorsais e dos olhos compostos (Carlson & Chi 1979, Briscoe & Chittka 2001, Stavenga 2006, Döring & Chittka 2007). Estão identificados fotoreceptores nos ocelos dorsais da formiga *Cataglyphis bicolor* (Fabricius) (UV) (Mote & Wehner 1980) e da mosca-do-vinagre *Drosophila melanogaster* (Meigen) (Hu & William 1980, Pollock & Benzer 1988), e

nos ocelos laterais (stemmata) de alguns lepidópteros (UV, azuis e verdes) (Ichikawa & Tateda 1982).

2.2. Visão cromática

Em primeiro lugar, é importante esclarecer que a cor e o comprimento de onda não são sinónimos. Os comprimentos de onda, por si só, são incolores, e as cores que nós visualizamos não são mais do que a percepção subjectiva resultante da nossa análise dos comprimentos de onda (Quadro 1). A confusão surge porque utilizamos as nossas designações das cores para descrever os comprimentos de onda espectrais. Por exemplo, um amarelo idêntico é produzido por um comprimento de onda de 580nm ou por uma mistura apropriada de luz vermelha (620nm) e verde (540nm) (Land & Nilsson 2002).

Quadro 1 – Percepção humana dos comprimentos de onda (cdo) da banda visível do espectro (adaptado de Land & Nilsson 2002 e de Meyer 2006).

Cor	violeta	azul	azul- verde	verde	verde - amarelo	amarelo	cor-de-laranja	vermelho
Cdo (nm)	400-450	450-500	500-520	520-550	550-570	570-600	600-630	630-700

Daphnia sp. Lubbock foi o primeiro invertebrado em que se conseguiu provar a presença de um sistema de visão cromática. Lubbock (1888) demonstrou que esta espécie respondia positivamente à luz, mas que preferia a luz amarela à luz branca. Sendo a luz branca mais brilhante em todos os comprimentos de onda, a preferência pela luz amarela veio comprovar a existência de preferência cromática. A primeira prova de um insecto com visão cromática foi fornecida por Karl von Frisch (1914) em relação à abelha *Apis mellifera* (Linnaeus).

2.2.1. Definição

A verdadeira visão cromática baseia-se na capacidade de discriminar luzes com composições espectrais distintas, independentemente da sua intensidade relativa (Menzel 1979, Prokopy & Owens 1983, Goldsmith 1991, Neumeyer 1991, Byrne & Hilbert 1997, DeValois & DeValois 1997, Pichaud *et al.* 1999, Antignus *et al.* 2001a, Land & Nilsson 2002, Kelber 2006). Pressupõe que o animal consiga utilizar ou aprender a utilizar não apenas os comprimentos de onda correspondentes aos picos de sensibilidade dos pigmentos visuais, mas também comprimentos de onda intermédios e combinações de comprimentos de onda, através de rácios de estimulação (Land & Nilsson 2002). No entanto, um insecto pode responder a determinados comprimentos de onda sem dispor de uma verdadeira visão

cromática (Carvalho 1986). É o caso dos comportamentos (e.g., voo, alimentação, acasalamento, postura) associados a comprimentos de onda específicos (e.g., *Pieris brassicae* (Linnaeus)) (Pichaud *et al.* 1999, Antignus *et al.* 2001a, Kevan *et al.* 2001, Land & Nilsson 2002). Neste tipo de comportamento, o insecto apenas responde a comprimentos de onda correspondentes aos picos de sensibilidade dos pigmentos visuais, não sendo capaz de responder a comprimentos de onda intermédios nem a combinações de comprimentos de onda (Land & Nilsson 2002). Isto implica a não integração dos diferentes estímulos no sistema nervoso central (Antignus *et al.* 2001a)

2.2.2. Requisitos

A discriminação de comprimentos de onda requer a presença de dois pigmentos visuais com diferentes sensibilidades espectrais (Jacobs 1981, Prokopy & Owens 1983, Chapman 1998a, Chiao *et al.* 2000, Land & Nilsson 2002, Kelber 2006) e de pelo menos um mecanismo de oposição cromática para comparar *inputs* de diferentes domínios espectrais (Kelber *et al.* 2003, Kelber 2006, Döring & Chittka 2007). Este mecanismo é necessário para produzir respostas à cor independentes da intensidade, um critério base para a visão cromática (Döring & Chittka 2007). Com apenas um pigmento visual é sempre possível ajustar as intensidades relativas do espectro para produzir respostas semelhantes e qualquer tipo de visão cromática é impossível (Fig.2) (Land & Nilsson 2002, Kelber *et al.* 2003). Com dois pigmentos visuais, cores espectrais de diferentes comprimentos de onda produzirão rácios únicos de estimulação dos dois pigmentos, independentemente da intensidade (Fig.2). A grande maioria dos artrópodes dispõe de pelo menos dois, ou tipicamente, três pigmentos visuais (Land & Nilsson 2002).

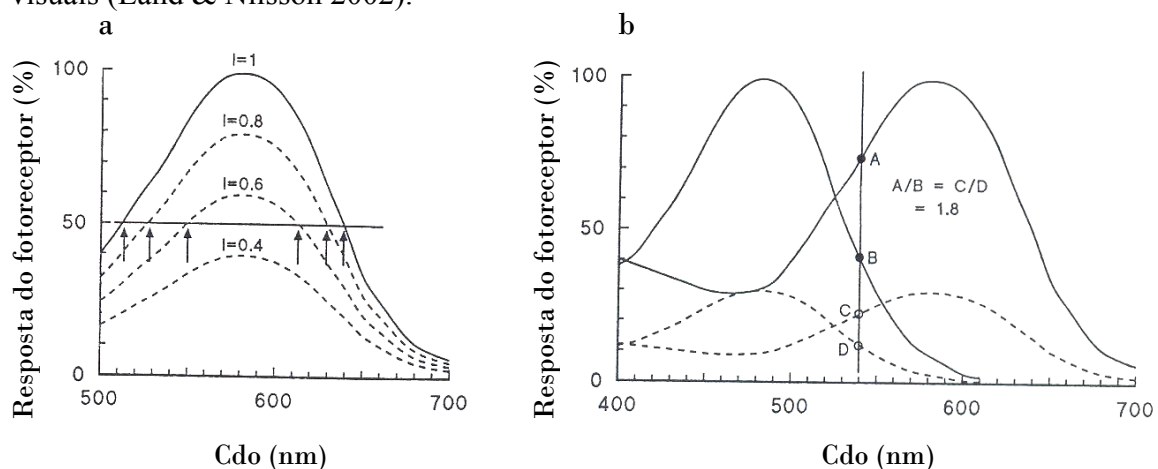


Fig.2 – São necessários pelo menos dois pigmentos visuais para a visão cromática. (a) Com apenas um pigmento, a resposta de um receptor a um determinado comprimento de onda (cdo) depende da intensidade luminosa (I); 50% de resposta pode ser induzida por qualquer uma das combinações indicadas pelas setas. (b) Com dois pigmentos visuais o rácio da estimulação (A/B ou C/D) é específico para um determinado comprimento de onda, independentemente da intensidade (Land & Nilsson 2002).

2.2.3. Factores que determinam a cor percebida

A percepção da cor de um objecto depende (i) das características da luz incidente, (ii) da natureza física da superfície, (iii) da estrutura molecular dos pigmentos visuais e (iv) do processamento da informação visual a nível neurológico

i) Características da luz incidente

A cor observada dependerá dos comprimentos de onda da luz sob a qual o objecto é observado, geralmente, luz solar ou luz branca – cor espectral (Chapman 1998b). O espectro de radiação electromagnética do sol forma um contínuo e abrange uma vasta banda de frequências desde os raios gama, de baixo comprimento de onda e elevada energia, até às ondas rádio, de comprimento de onda muito elevado e baixa energia (Prokopy & Owens 1983, Hunt *et al.* 2001). No entanto, apenas uma pequena porção deste espectro atinge a superfície terrestre. A radiação abaixo dos 320nm [ultravioleta (UV) B e C] é muito filtrada pela camada de ozono da Terra e está, por isso, indisponível para o sistema visual (Hunt *et al.* 2001). Do espectro que atinge a superfície terrestre, 7% corresponde ao UV (<400nm), 44% ao visível (400-700nm), 37% ao infravermelho próximo (700-1500nm) e 11% ao infravermelho longo (>1500nm). Menos de 1% da radiação concentra-se acima do infravermelho (CPTEC/INPE 2008).

A quantidade e a qualidade da luz solar que incide sobre a terra em qualquer ponto no tempo e no espaço, depende de diferentes variáveis (e.g., altura do dia, altura do ano, latitude e longitude, altitude, turbulência ou do grau de cobertura do céu por nuvens) (Prokopy & Owens 1983). A radiação crepuscular, por exemplo, está desviada para a zona do azul, relativamente à luz que incide sobre a superfície terrestre ao meio-dia, e pensa-se que poderá também conter uma componente vermelha relativamente forte (Briscoe & Chittka 2001)

O intervalo de comprimento de onda visível para os humanos estende-se entre 400 e 700nm, com alguma sensibilidade até aos 800nm (Land & Nilsson 2002). Segundo Silberglied (1979), a luz ultravioleta não é qualitativamente diferente da luz visível. São os olhos dos vertebrados que são diferentes. Na maioria das espécies dos vertebrados, comprimentos de onda inferiores a 400nm são impedidos de alcançar a retina por pigmentos protectores nas lentes e/ou na córnea. Para muitos animais, incluindo aves, peixes e insectos, o espectro estende-se desde o UV A (320nm-400nm) até ao vermelho (600-700nm) (Prokopy & Owens 1983, Gärtner 2000, Briscoe & Chittka 2001, Land & Nilsson 2001). Algumas borboletas dispõem de pigmentos visuais com sensibilidades máximas no infravermelho próximo (Land & Nilsson 2002). Os únicos insectos que se sabe terem detectores especiais

para o infravermelho são determinados escaravelhos (*Melanophila acuminata* (De Geer)), que se aproximam das florestas em chamas, a partir de muitos quilómetros de distância, para se reproduzirem e, assim, assegurarem a sobrevivência das suas larvas, dependentes da madeira queimada (Schmitz & Bleckmann 1998).

ii) Natureza física da superfície

A cor observada resultará dos comprimentos de onda absorvidos e reflectidos pela superfície – cor física ou estrutural (Chapman 1998b). Para os humanos, a superfície reflectora parecerá branca se todos os comprimentos forem igualmente reflectidos, a sua aparência será preta se todos forem absorvidos (Chapman 1998b).

Os objectos reflectem luz de diferentes comprimentos de onda. Por isso, a distribuição dos comprimentos de onda da luz reflectida pode fornecer uma chave valiosa para a identificação do objecto (Land & Nilsson 2002). As curvas de reflectância-transmissão espectral da folhagem em condições de luminosidade difusa são admiravelmente consistentes para uma grande variedade de espécies. Esta consistência deve-se às propriedades de absorção da clorofila presentes nas plantas vasculares (dentro do espectro visível dos insectos) responsável pela cor dominante da folhagem com reflectância-transmissão entre 500 e 580nm (pico nos 550nm, cerca de 20% do pico nos 350nm e 40% nos 650nm) (Prokopy & Owens 1983, Land & Nilsson 2002).

iii) Estrutura molecular dos pigmentos visuais

A percepção da cor depende dos comprimentos de onda absorvidos e reflectidos pelos pigmentos visuais do observador – cor pigmentar (Chapman 1998b).

Visão humana

A teoria da tricromacia, também conhecida por Teoria Young-Helmholtz, foi demonstrada pela primeira vez em 1860, por Maxwell, com a projecção de três círculos monocromáticos azul, verde e vermelho, sobrepostos. Esta experiência demonstrou que as diferentes misturas das três cores primárias possibilitam a formação de todas as cores passíveis de serem percebidas pelo Homem. Assim, da mistura do azul com o verde resulta o azul céu, da mistura do verde com o vermelho resulta o amarelo, da mistura do vermelho com o azul resulta a magenta e, da mistura das três, resulta o branco (Britannica 2008).

A sensação de cor, nos humanos, é produzida a partir de três tipos de fotoreceptores – os chamados “cones” – localizados em cada ponto da retina humana, com picos de sensibilidade em três zonas do espectro do visível, 420nm (azul), 534nm (verde) e 564nm (“vermelho”).

Cada cone é sensível à luz dentro de uma banda larga de comprimento de onda e as zonas de sensibilidade dos três tipos de cones estão sobrepostas. Nenhum dos cones é especificamente sensível aos comprimentos de onda vermelhos ($>630\text{nm}$). O cone mais próximo do vermelho tem pico de sensibilidade no comprimento de onda próximo de 564nm , o que corresponde a uma cor espectral amarelo esverdeado. O aumento da intensidade do vermelho corresponde a uma diminuição do *output* dos cones 564nm e a uma diminuição ainda maior do *output* dos cones 534nm , de modo a que para o vermelho apenas os cones 564nm estão activos (Land & Nilsson 2002).

A cor visualizada pelos humanos depende da estimulação relativa dos três tipos de cones. Assim, dois estímulos de composição espectral diferente parecerão idênticos se fornecerem os mesmos rácios de estimulação. Por exemplo, qualquer estímulo que dê origem a uma razão de 3 para 1 na actividade dos cones vermelhos e verdes com os azuis quase inactivos, dará origem à sensação de vermelho (Land & Nilsson 2002).

Sistemas de visão cromática nos insectos

Os sistemas de visão da cor dos animais variam no número de distintas classes espectrais de fotoreceptores que são utilizados para extrair informação cromática do mundo exterior (Chiao *et al.* 2000). Todos os insectos, independentemente da sua capacidade de discriminar cores, apresentam um pigmento visual com um máximo de absorção na banda verde do espectro ($490\text{-}540\text{nm}$) (Chapman 1998a). Na maioria dos insectos estudados, foi identificado o receptor UV ($\lambda_{\text{máx}} \sim 350\text{nm}$). Não existe nenhuma espécie onde se tenha confirmado a ausência de receptores UV (Briscoe & Chittka 2001). A existência destes receptores permaneceu desconhecida até 1801, quando Johann Ritter demonstrou o efeito químico dessa radiação (Silberglied 1979). A existência de resposta comportamental em relação à luz UV foi descoberta no século XIX por Sir John Lubbock (Lubbock 1881), com formigas e, umas décadas mais tarde, em abelhas (Kühn 1924). Os receptores com sensibilidade aos UV parecem ser extremamente comuns nos insectos, crustáceos, aves, peixes e répteis, e parecem estar presentes em alguns mamíferos e anfíbios (Jacobs 1992, Tovée 1995). Salcedo *et al.* (2003) demonstraram que o polimorfismo de um único aminoácido é responsável pela visão ultravioleta.

A origem da visão cromática continua a ser apenas especulativa. Pichaud *et al.* (1999) defendem um sistema primitivo constituído por dois pigmentos, sensíveis aos UV e aos médios-longos comprimentos de onda. Döring & Chittka (2007) defendem que o ancestral dos insectos pterigotas estivesse equipado com três pigmentos com sensibilidade nos UV, azul e verde.

Até ao presente, a visão cromática nos insectos tem sido principalmente estudada no contexto do reconhecimento de flores, sendo as abelhas os insectos mais estudados (Chittka & Waser 1997, Chittka *et al.* 1994, Chittka & Kevan 2005).

A visão cromática é classificada em dicromática, tricromática, tetracromática, etc., de acordo com o número de pigmentos visuais (com diferentes sensibilidades espectrais) necessários para reproduzir qualquer cor espectral, e necessita de ser estabelecida comportamentalmente (Kelber *et al.* 2003, Land & Nilsson 2002). O maior número de tipos diferentes de receptores espectrais encontrados em espécies de insectos foi seis, em dípteros (Briscoe & Chittka 2001).

Os insectos dicromáticos têm apenas dois pigmentos visuais, com picos de sensibilidade nos intervalos 320-400nm (UV) e 500-560nm (verde) ou nos intervalos 420-470nm (azul) e 500-560nm (verde) (Briscoe & Chittka 2001, Chittka & Kevan 2005). A barata *Periplaneta americana* (Linnaeus) apresenta sensibilidade máxima a 365nm (UV) e a 510nm (verde) (Mote & Goldsmith 1970) e a libélula *Libellula needhami* (Westfall), a 430nm (azul) e a 519nm (verde) (Horridge 1969). Estes insectos são normalmente incapazes de discriminar cores puras de misturas de cores (Meyer 2006).

O tipo mais comum de tricromacia utiliza receptores UV com sensibilidade máxima por volta dos 350nm, receptores azuis com sensibilidade máxima nos 420-470nm e receptores verdes com sensibilidade máxima nos 500-550nm (Chapman 1998a, Meyer 2006, Kelber 2006). Os picos de sensibilidade dos receptores da abelha *Apis mellifera* são a 344nm (UV), 436nm (azul) e 556nm (verde) (Menzel & Blakers 1976), os dos receptores do coccinelídeo *Coccinella* sp. são a 360nm (UV), 420nm (azul) e 520nm (verde) (Lin 1993), os do grilo *Gryllus bimaculatus* (De Geer) são a 332nm (UV), 445nm (azul) e a 515nm (verde) (Zufall *et al.* 1989), e os do afídeo *Myzus persicae* (Sulzer) são a 325nm (UV), 460nm (azul) e a 530nm (verde) (Kirchner *et al.* 2005).

Segundo Chapman (1998a), comprimentos de onda elevados (e.g., vermelho) não estimulam os olhos da maioria dos insectos. No entanto, Chittka & Waser (1997) e Döring & Chittka (2007) defendem que a ausência do receptor vermelho não implica que o vermelho seja invisível para os insectos. Para insectos tricromáticos, o vermelho pode ser menos detectável do que o verde, mas isso dependerá da forma precisa da sua curva de reflectância, bem como das sensibilidades dos fotoreceptores e do mecanismo de oposição. Assim, insectos sem fotoreceptores vermelhos não podem distinguir rigorosamente (e.g., independentemente da intensidade) o vermelho da cor-de-laranja ou o amarelo do verde. Estes autores sugerem

que, para os afídeos, as folhas vermelhas não constituirão um grupo distinto das folhas verdes pela cor, mas apenas pela intensidade (Chittka & Waser 1997, Döring & Chittka 2007).

Os insectos tricromáticos conseguem ter a percepção do espectro completo das cores, bem como distinguir entre cores puras e misturas de cores (Meyer 2006).

Muitas espécies de insectos apresentam variações em relação ao seu sistema tricromático primordial, apresentando quatro ou mais receptores espectrais (Döring & Chittka 2007). Por exemplo, a borboleta cauda de andorinha *Papilio xuthus* (Linnaeus) (Arikawa 2003), a libélula *Sympetrum rubicundulum* (Say) (Meinertzhagen *et al.* 1983) e a mosca doméstica, *Musca domestica* (Linnaeus) (Hardie 1986), têm cinco tipos de receptores.

iv) Processamento da informação visual a nível neurológico

A determinação do número de pigmentos visuais e dos respectivos picos de sensibilidade não é suficiente para definir o tipo de visão de um insecto. Embora a presença de dois tipos de células fotoreceptoras com diferentes sensibilidades espectrais seja pré-requisito para a visão cromática, são os mecanismos neurológicos que vão determinar se o insecto tem apenas um comportamento associado a um comprimento de onda específico ou se dispõe mesmo de verdadeira visão cromática. São necessários, por isso, ensaios comportamentais para compreender o processamento da informação visual a nível neurológico, averiguando a existência ou não do(s) mecanismo(s) de oposição cromática, necessário(s) à comparação dos *inputs* de diferentes domínios espectrais (Pichaud *et al.* 1999, Kelber 2006, Döring & Chittka 2007). O estudo deste mecanismo, já desenvolvido em crustáceos e insectos, é ainda muito limitado (Kelber 2006).

Como a discriminação das cores pelos humanos e pelos insectos é tão diferente, qualquer classificação das cores realizada com base na visão humana poderá ser potencialmente falaciosa quando se discutem possíveis efeitos das cores nos insectos (Döring & Chittka 2007).

2.2.4. Mecanismos de contraste cromático utilizados pelos insectos

A detecção de um objecto a qualquer distância pelo sistema visual de um insecto é função das dimensões do objecto, propriedades ópticas do ambiente, da intensidade da iluminação e do contraste em relação ao meio envolvente (Prokopy & Owens 1983). Geralmente, não é a reflectância absoluta dos objectos que interessa, mas antes as diferenças de reflectância que definem as suas partes. É necessário reconhecer objectos numa grande diversidade de condições luminosas. Por isso, no processamento da informação visual, o nível de luz

absoluta tem que ser eliminado. A característica dos objectos que é necessário registar é o seu contraste, que é a medida da distância cromática entre duas partes (Land & Nilsson 2002). O contraste pode surgir de diferenças de intensidade, diferenças espectrais, diferenças de padrão, de movimento, tudo o que possa fornecer um estímulo ao insecto (Prokopy & Owens 1983).

É reconhecida a importância da radiação “verde” reflectida pelos objectos na percepção visual dos insectos sensíveis a este comprimento de onda, especialmente para as abelhas, em particular na detecção de movimento e no reconhecimento da dimensão e forma (Dafni *et al.* 1997, Lehrer 1997). Chittka *et al.* (1994) verificaram que as abelhas utilizam o contraste entre as flores e o verde da folhagem na sua detecção. Sabe-se também que alvos coloridos de igual tamanho que combinem o contraste cromático com o contraste na parte verde do espectro são visíveis para as abelhas a partir de uma distância três vezes superior aos alvos coloridos sem o contraste verde (Giurfa *et al.* 1996).

Tem sido sugerido que a percepção de silhuetas (e.g., folhagem sob céu azul) e/ou referenciais (e.g., linha do horizonte) pelos insectos se baseia num mecanismo de contraste cromático envolvendo os receptores UV e os receptores verdes, segundo Möller (2002), e entre os UV e os verdes e amarelos, segundo Pichaud *et al.* (1999). Pensa-se que os insectos poderão ser capazes de explorar a diferença de composição espectral entre o céu (com maior porção de UV) e a luz reflectida pela vegetação (com menor porção de UV e reflexão predominante dos comprimentos de onda de energia média, verde-amarelo) (Pichaud *et al.* 1999, Möller 2002, Wehner 1992).

2.3. Os órgãos de visão dos insectos

Os principais órgãos de visão dos insectos são os ocelos laterais ou stemmata das larvas dos insectos hololetabólicos e os ocelos dorsais e olhos compostos das ninfas dos insectos hemimetabólicos e dos insectos adultos. Estes receptores distinguem-se pela sua constituição, desenvolvimento e localização. No entanto, nos casos em que são mais desenvolvidos, apresentam analogias na sua constituição (Fig.3). A porção mais externa da cutícula, transparente e convexa, constitui a córnea ou lente. Nos ocelos laterais e nos omatídeos dos olhos compostos está adjacente ao cristalino, um corpo cónico, também transparente, rodeado pelas células corneanas. Estas células, também presentes nos ocelos dorsais, apresentam-se normalmente envolvidas pelas células pigmentares. Imediatamente abaixo destas células estão os elementos sensoriais, neurónios alongados designados por células visuais (células da retina ou células nervosas sensoriais). Estas células organizam-se em torno de um eixo comum, onde incidem os raios luminosos. A margem de cada célula visual que contribui para a

formação desse eixo diferencia-se em microtubos designados *microvilli*, justapostos, que se estendem por todo o comprimento da célula. É nestas estruturas que estão localizados os pigmentos visuais. O conjunto dos *microvilli* de cada célula visual constitui o rabdômero. Colectivamente, os rabdômeros de cada conjunto de células visuais constituem o rabdoma, a célula fotoreceptora. É neste organelo que os raios de luz são transmitidos, filtrados e, finalmente, absorvidos pelos pigmentos visuais. Os numerosos *microvilli* de cada célula visual têm todos a mesma orientação e estão normalmente alinhados com as células visuais opostas e adjacentes, na direcção dos fotões incidentes (Chapman 1972, 1998a, Carlson & Chi 1978, Carvalho 1986, Gullan & Cranston 1994, Land 2003).

Em cada ocelo lateral e em cada unidade do olho composto, as células visuais reúnem-se num único rabdoma (Carvalho 1986). Nos ocelos dorsais o rabdoma é formado pelos rabdômeros de cada duas a sete células visuais (Chapman 1998a).

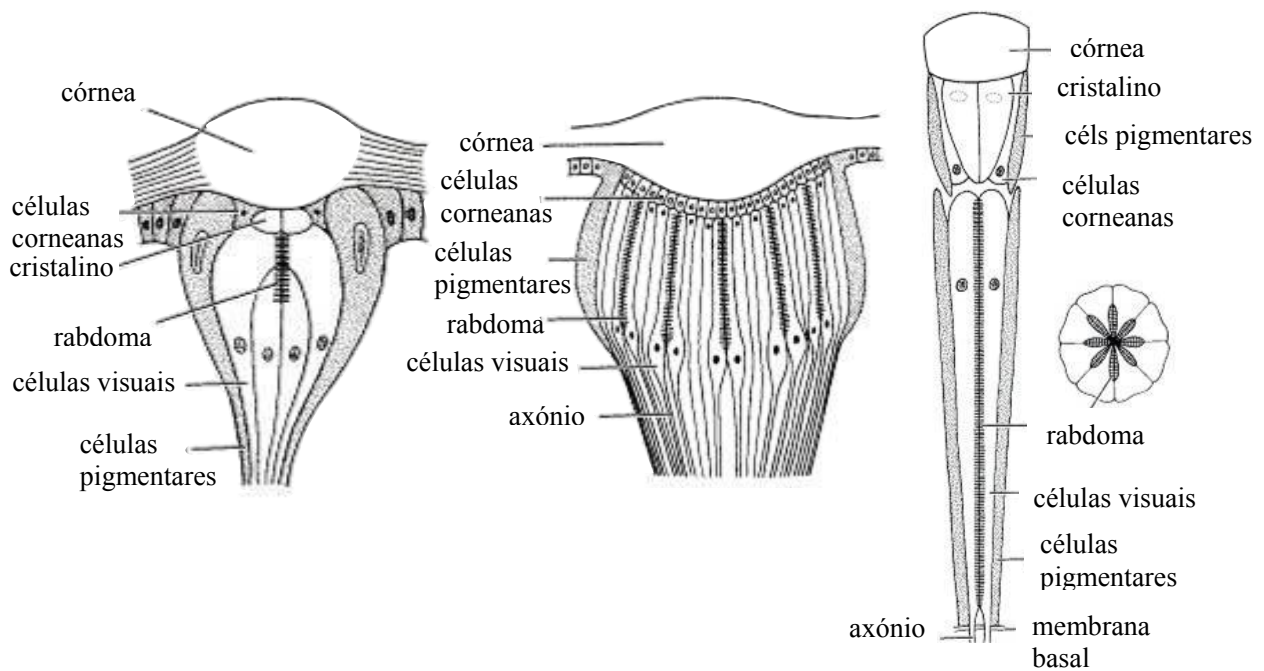


Fig.3 – Corte longitudinal de um ocelo lateral, ou *stemmata*, de uma larva de lepidóptero (à esquerda); de um ocelo dorsal de um insecto adulto (ao centro) e de um omatídeo de um olho composto (de aposição) (adaptado de Gullan & Cranston 1994).

Os rabdomas podem assumir diferentes configurações, o que é importante ter em conta no estudo de um sistema visual, uma vez que a estrutura dos rabdomas afecta a forma das curvas de sensibilidade espectral dos fotoreceptores. Na maioria dos insectos (e.g., libelinhas, borboletas, abelhas, escaravelhos, crisopídeos e colembola) os rabdômeros “encostam-se” uns nos outros ao longo do eixo do órgão visual formando um rabdoma “fundido” ou “fechado” (Fig.4) (embora as células não estejam realmente fundidas), mas nas ordens Diptera,

Dermaptera, alguns Heteroptera e Coleoptera, os rabdomeros formam um rabdoma “aberto” (Fig.4). Nos rabdomas fundidos, todas as células visuais têm o mesmo campo de visão e os rabdomeros que contêm pigmentos visuais diferentes actuam como filtros laterais para outros. Isso tem o efeito de manter curvas de sensibilidade espectral com formas semelhantes às do espectro de absorção dos pigmentos. Nos rabdomas abertos, cada célula visual tem um campo visual independente, partilhado por células adjacentes de outros rabdomas. Não ocorrem efeitos de filtragem, o que origina uma curva de sensibilidade espectral mais ampla que o espectro de absorção do pigmento visual (Chapman 1972, 1996a, Carlson & Chi 1979, Briscoe & Chittka 2001)

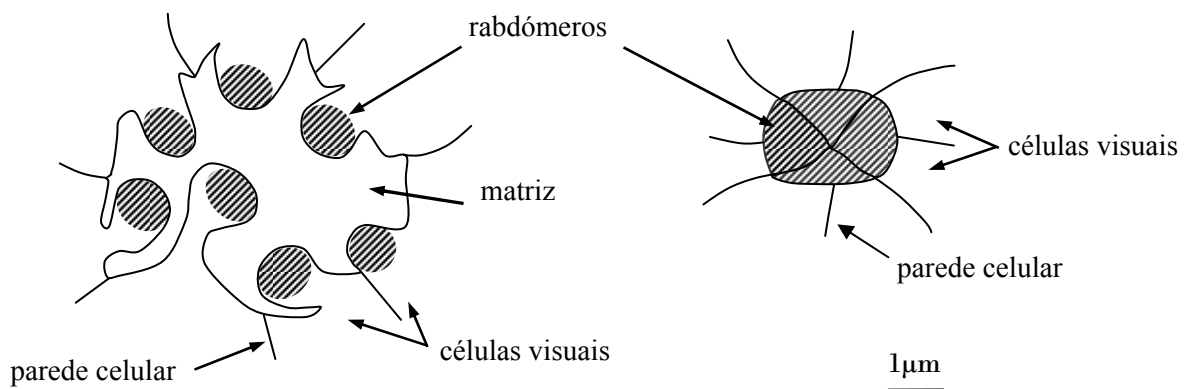


Fig.4 – Secção transversal de omatídeos: rabdoma aberto da *Drosophila* (à esquerda) e rabdoma fechado da *Apis* (à direita) (adaptado de Chapman 1972).

A limitar internamente cada estrutura visual (olho dorsal, ventral e lateral) está a membrana basal. Esta membrana constitui uma fronteira por onde passam os axónios das células visuais que vão transmitir o impulso nervoso ao cérebro do insecto (lóbulo óptico) através das sinapses (Fig.3) (Chapman 1972, 1998a, Carlson & Chi 1978, Carvalho 1986, Gullan & Cranston 1994, Land 2003).

Existem, também, insectos (e.g., baratas e larvas de lepidópteros) com sensibilidade dérmica, i.e., detectam luz através de receptores localizados no seu tegumento. Nestes casos, não existe nenhum órgão de visão específico. A existência destes “sensores” foi verificada experimentalmente pela persistência de respostas à luz depois de cobertos todos os órgãos de visão. As baratas, mesmo após decapitação, continuam a conseguir detectar e evitar a luz (Chapman 1972, 1998a, Carlson & Chi 1978, Carvalho 1986, Gullan & Cranston 1994). Existem, ainda, insectos adultos com olhos reduzidos ou ausentes (Carvalho 1986).

A dimensão relativa das lentes, poderá ser um indicador do seu grau de desenvolvimento e complexidade. Olhos com lentes de maiores dimensões estão, em princípio, associados a

maior poder de resolução ou a maior sensibilidade (Chapman 1972, 1996a, Carlson & Chi 1979, Land & Nilsson 2002).

2.3.1. Ocelos laterais ou *stemmata*

Os ocelos laterais (Fig.3), ou *stemmata*, são os únicos órgãos visuais das larvas dos insectos holometabólicos (Carvalho 1986, Gullan & Cranston 1994, Land & Nilsson 2002, Land 2003). Variam bastante em tamanho e complexidade, consoante o grau de diferenciação da córnea, das células corneanas e do cristalino (Carvalho 1986, Gilbert 1994, Land & Nilsson 2002). Por exemplo, as larvas das moscas não têm mais do que um pequeno grupo de células em cada lado da cabeça. As larvas de lepidópteros, no entanto, dispõem de ocelos com lentes, com uma estrutura semelhante à de um omatídeo de um olho composto. O caso mais extremo é o dos *stemmata* dos escaravelhos tigre (*Cicindela*). Um dos seis pares de ocelos laterais distingue-se pela sua maior dimensão (0,2mm), apresentando poder de resolução semelhante ou superior ao dos olhos compostos da maioria dos insectos adultos (Land & Nilsson 2002).

A visão associada a estes receptores é pobre. A sua principal função é a de convergir os raios luminosos (Gullan & Cranston 1994). Admite-se, no entanto, que nos casos em que se apresentam mais desenvolvidos, possam formar uma imagem invertida, mais ou menos nítida, ao nível do rabdoma (Carvalho 1986), discriminando forma, distância e tamanho (Gullan & Cranston 1994). Sabe-se, pela análise do comportamento dos insectos, que os ocelos laterais permitem a percepção do movimento dos objectos abrangidos pelo seu campo de visão. Em muitos casos, são sensíveis às diferenças de coloração dos objectos (Carvalho 1986), como nos ocelos dos lepidópteros do género *Isia*, com três tipos de receptores (Land & Nilsson 2002).

Os ocelos laterais não se devem confundir com determinados olhos simples, atípicos e rudimentares que, embora também se localizem em posição lateral, apenas aparecem em adultos (Carvalho 1986).

2.3.2. Ocelos dorsais

Muitos insectos adultos e ninfas de insectos hemimetabólicos apresentam olhos simples dorsais (Fig.3), além dos olhos compostos (Gullan & Cranston 1994, Chapman 1998a). Nos adultos dos insectos voadores, existem tipicamente em número de três, formando um triângulo invertido posicionado antero-dorsalmente na cabeça (Carvalho 1986, Chapman 1998a, Land & Nilsson 2002). Existe forte relação entre os insectos voadores e a existência de

ocelos dorsais (Carlson & Chi 1979). Estes ocelos assemelham-se aos das larvas, possuindo uma lente e uma retina estendida, mas não são embriologicamente semelhantes aos *stemmata* (Land & Nilsson 2002).

As funções dos ocelos dorsais relacionam-se com o grau de desenvolvimento dos olhos compostos (Carvalho 1986, Gullan & Cranston 1994). Parecem aumentar a detecção de luz pelos olhos compostos e registar as mudanças cíclicas de intensidade luminosa relacionadas com ritmos comportamentais diurnos. São muito sensíveis a baixas intensidades luminosas e a alterações subtis de intensidade (Chapman 1972, 1998a, Gullan & Cranston 1994). Apesar de não permitirem a visão, poderão formar imagens desfocadas devido à proximidade da retina em relação à lente (Carvalho 1986, Land & Nilsson 2002). De acordo com Land & Nilsson (2002), os olhos dorsais poderão ser deliberadamente desfocados. Do ponto de vista desta teoria, a produção de imagens desfocadas passa a fazer sentido: padrões espaciais repetitivos como as folhas e os ramos serão removidos, permitindo aos receptores responder a alterações da distribuição global de luz no céu (Land & Nilsson 2002). Wilson (1978) e Stange (1981) descobriram que os ocelos dos gafanhotos, libelinhas e sirfídeos estão envolvidos na estabilização horizontal do voo. Estes investigadores observaram que qualquer alteração nas coordenadas é imediatamente monitorizada por comparação dos *inputs* nos três ocelos. A alteração artificial da orientação do horizonte ou até a redução da intensidade luminosa de um dos lados desencadeiam movimentos correctores (Wilson 1978, Cornwell 1955). Em algumas espécies, intervêm na orientação do insecto por serem sensíveis às mudanças de plano de vibração da luz polarizada (Carvalho 1986). Em certos casos respondem a comprimentos de onda específicos (Carlson & Chi 1979).

2.3.3. Olhos compostos

A generalidade dos insectos adultos e das ninfas dos insectos hemimetabólicos apresentam olhos compostos proeminentes e de grandes dimensões, ocupando grande porção da cápsula cefálica (Fig.3). Estes olhos são assim designados por serem constituídos por numerosas unidades idênticas, os omatídeos. Cada omatídeo, com constituição análoga a um ocelo lateral, é constituído basicamente pela córnea, células do cristalino, células pigmentares (primárias e secundárias) e células visuais. Observando a superfície de um olho composto identificam-se numerosas facetas hexagonais justapostas, que correspondem às lentes dos omatídeos (Carvalho 1986, Chapman 1998a, Land 2003).

Os olhos compostos podem classificar-se em olhos de aposição e olhos de sobreposição, consoante a influência da intensidade luminosa na distribuição dos pigmentos. Nos olhos de

aposição, frequentes nos insectos diurnos, as células fotoreceptoras (rabdoma+células visuais) localizam-se próximo das lentes, sendo a distribuição dos pigmentos pouco afectada pela intensidade luminosa. Nos olhos de sobreposição, típicos dos insectos com actividade crepuscular ou nocturna, as células fotoreceptoras dos olhos compostos estão distanciadas das lentes (Carvalho 1986, Chapman 1998a, Land 1997, 2003).

Os olhos compostos são sensíveis à luz e permitem, aos insectos, a distinção das formas dos objectos, os seus movimentos, a distância a que se encontram e das “cores” (Carvalho 1986). Nos insectos, a formação de uma verdadeira imagem é propriedade exclusiva dos olhos compostos (Prokopy & Owens 1983).

2.3.4. Olhos atípicos

Nos machos adultos de Strepsiptera, que, tal como os machos adultos de *P. citri*, emergem do casulo sem armadura bucal funcional, os olhos “compostos” não são constituídos pelos típicos omatídeos mas por lentes de maiores dimensões e presentes em menor número do que as associadas aos omatídeos, cada uma com uma retina adjacente independente e espessa, rodeada por células pigmentares. Também as células fotoreceptoras apresentam um arranjo atípico. Todos os rabdomas estabelecem contacto com rabdomas de células vizinhas, formando uma malha irregular hexagonal, que se prolonga por toda a extensão da retina. Estas estruturas poderão representar uma forma intermédia entre os ocelos e os olhos compostos. Este arranjo único sugere que o insecto possa resolver múltiplos pontos visuais com cada lente, ao contrário da restrição de cada omatídeo à resolução de um único ponto do espaço (Buschbeck *et al.* 1999, 2003, Pix *et al.* 2000).

Estruturas visuais presentes nas cochonilhas

Os machos adultos das cochonilhas apresentam uma cabeça com aspecto bizarro devido à presença de olhos supranumerários (Gulan & Kosztarab 1997). Nas famílias Coccidae, Diaspididae, Eriococcidae e Pseudococcidae, os machos adultos dispõem, tipicamente, de três pares de olhos simples: um par posicionado dorsolateralmente, onde a maioria dos insectos tem olhos compostos, um par posicionado ventralmente, e um par, mais pequeno, posicionado lateralmente (Afifi 1968, Duelli 1985, Gulan & Kosztarab 1997). Existem, no entanto, algumas espécies de pseudococcídeos, coccídeos e eriococcídeos que apresentam, para além destes três pares de olhos, outros olhos simples dispostos numa linha dorsoventral em cada lado da cabeça (Gulan & Kosztarab 1997). Estão também identificadas espécies de cochonilhas em que os ocelos laterais estão ausentes. É o caso dos coccídeos *Inglisia patella* (Maskell) e *Pounamococcus cuneatus* (Henderson & Hodgson), indígenas da NovaZelândia

(Hodgson & Henderson 2004). Na generalidade das espécies da família Margarodidae, os machos adultos possuem um par de olhos compostos e um par de pequenos ocelos laterais pequenos (Gullan & Kosztarab 1997, Hodgson & Foldi 2006). Desta família, apenas a *Steingelia gorodetskia* (Nassonov) se distingue das outras espécies por apresentar sete olhos simples no lugar de cada olho composto (Gullan & Kosztarab 1997, Hodgson & Foldi 2006).

O único estudo publicado sobre a morfologia interna dos olhos de cochonilhas foi realizado por Duelli (1978) sobre os machos adultos de *Eriococcus* sp. A córnea apresenta protuberâncias características dos insectos com actividade nocturna (e.g., Lepidoptera, Neuroptera). Correspondem a evaginações das células corneanas. Está demonstrado que reduzem a reflexão de luz pela lente, e aumentam a sua transmissão (Carlson & Chi 1972, Duelli 1978). Em oposição à generalidade dos insectos, com rabdómero constituído por *microvilli* cilíndricos, presentes em todas as células da retina dos ocelos, os fotoreceptores de *Eriococcus* sp. não contêm *microvilli* reconhecíveis. No seu lugar, apresentam configurações membranosas semelhantes aos cones dos vertebrados (Duelli 1978).

Com base nos resultados obtidos por Wilson (1978) e Cornwell (1955) e através da observação de machos da família Coccidae que, à semelhança de outros pequenos insectos como certos himenópteros e dípteros, mantêm, em voo, o eixo do corpo praticamente na vertical, Duelli (1985) verificou que o campo visual abrangido por estes olhos não corresponde à área sob o insecto mas à que está defronte dele. Duelli (1985) assumiu, assim, que os ocelos ventrais e dorsais presentes nos machos adultos das cochonilha formem, na posição natural de voo, um anel de visão mais ou menos horizontal, cuja principal função seria a de monitorizar alterações na posição do eixo do corpo em relação ao horizonte. A ausência dos pares de olhos dorsal e ventral nas formas ápteras de alguns pseudococcídeos, como por exemplo *Saccharicoccus sacchari* (Cockerell) (Afifi 1968), constitui evidência indirecta de que este tipo de olhos está envolvido no voo destes insectos. Na análise da estrutura dos olhos simples desenvolvida por Duelli (1978), colocou-se a hipótese dos ocelos ventrais serem utilizados na localização de locais de aterragem, na vegetação, de onde é emitida a feromona sexual pelas fêmeas receptivas.

2.4. Caracterização morfológica dos órgãos de visão dos machos adultos de *Planococcus citri* (Risso)

Os três pares de olhos simples estão dispostos no mesmo plano (Fig.5 I, III). Cada olho lateral está posicionado entre um olho dorsal e um olho ventral (Fig.5 I), diferenciando-se destes pela sua menor dimensão e por apresentar uma superfície corneana lisa (Fig.5 I, III, IV; Fig.8). Segundo Afifi (1968), a córnea do olho simples dorsal apresenta 18-25µm de diâmetro, distanciado 92-104 µm do outro olho, i.e, 3.8-5,6 vezes o seu diâmetro. Os olhos simples ventrais são ligeiramente maiores (24-31 µm de diâmetro) e estão afastados apenas 24-43 µm. Os olhos simples laterais são bem desenvolvidos.

As imagens obtidas por Microscopia Electrónica de Varrimento mostram estriações na superfície da lente dos olhos dorsais e ventrais (Fig.5-8). Este caracter poderá, no entanto, ser um artefacto induzido pela desidratação dos exemplares durante o processo de preparação e montagem.

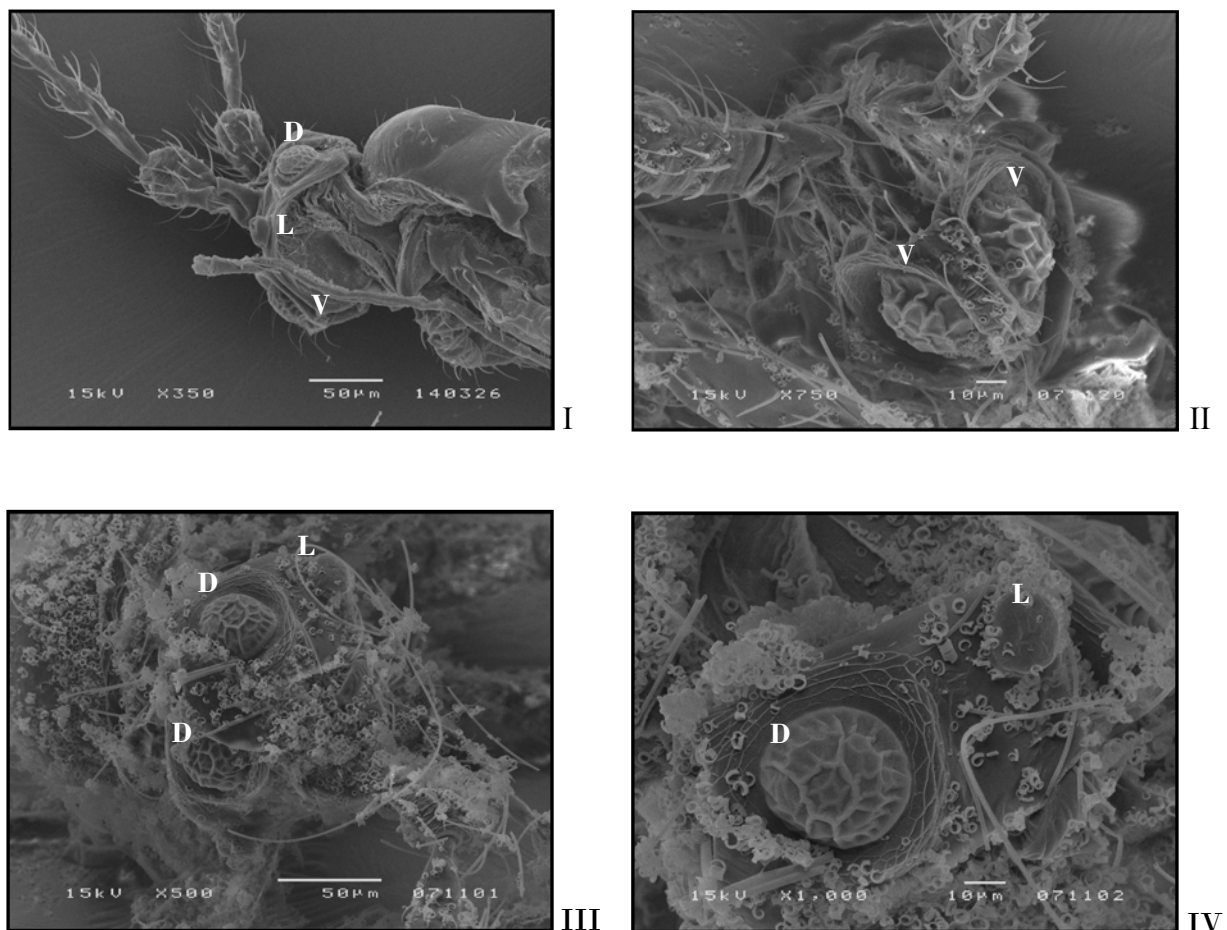


Fig.5 – Localização relativa dos três pares de olhos simples do macho adulto de *Planococcus citri* (Risso): olho ventral (V); olho dorsal (D); olho lateral (L). Imagens de Microscopia Electrónica de Varrimento (Elsa Borges da Silva e Telmo Antunes).

Na terceira imagem da Fig.6 conseguem-se observar as protuberâncias da córnea de um olho ventral de *P. citri*, também presentes nos olhos dorsais, semelhantes às descritas por Duelli (1978) para o género *Eriococcus*.

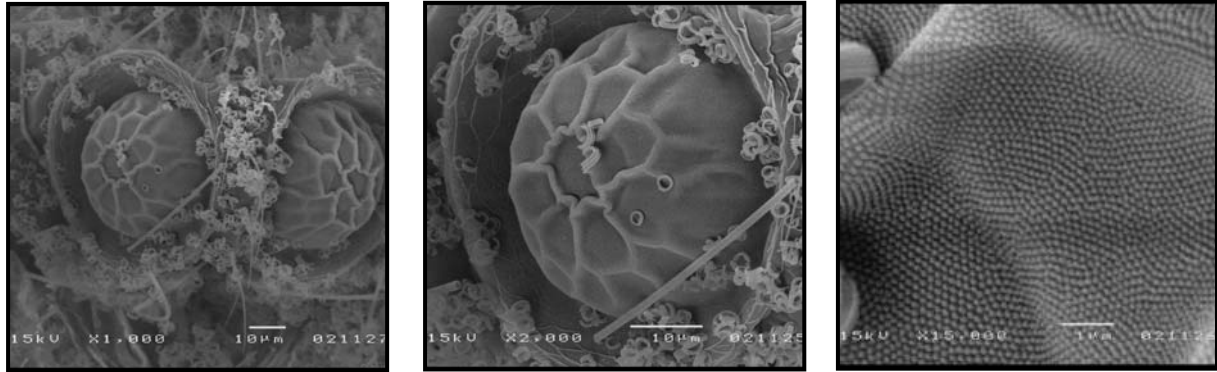


Fig.6 – Olhos simples ventrais do macho adulto de *Planococcus citri* (Risso) (da esquerda para a direita): par ventral; olho ventral; pormenor da córnea do olho ventral. Imagens de Microscopia Electrónica de Varrimento (Elsa Borges da Silva e Telmo Antunes).

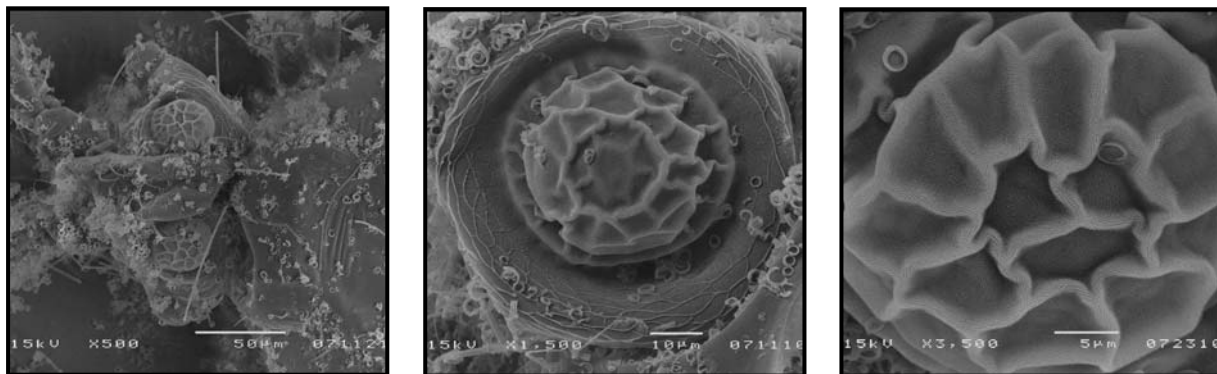


Fig.7 – Olhos simples dorsais do macho adulto de *Planococcus citri* (Risso) (da esquerda para a direita): par dorsal; olho dorsal; pormenor da córnea do olho dorsal. Imagens de Microscopia Electrónica de Varrimento (Elsa Borges da Silva e Telmo Antunes).

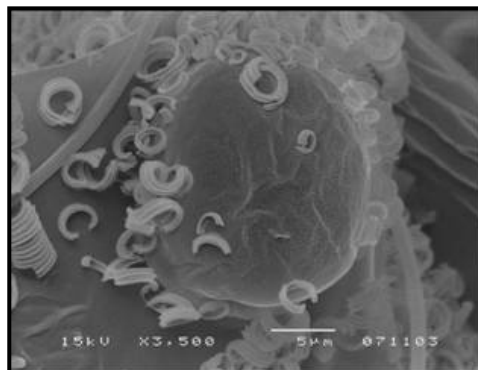


Fig.8 – Olho simples lateral do macho adulto de *Planococcus citri* (Risso). Imagem de Microscopia Electrónica de Varrimento (Elsa Borges da Silva e Telmo Antunes).

2.5. Sensibilidade espectral dos machos adultos de *Planococcus citri* (Risso): estado da arte

Foram desenvolvidos três estudos com o objectivo de determinar se existe uma cor mais atractiva para os machos de *P.citri*. Os resultados obtidos apontam para uma sensibilidade dos machos para estímulos de maior comprimento de onda (laranja-vermelho) e para a cor branca.

Ortu & Delrio (1982) compararam quatro cores – branco, amarelo, verde e cor-de-laranja. Apesar da cor-de-laranja ter obtido o maior nível médio de capturas e a cor verde o menor, essas diferenças não foram significativas. Em Portugal, compararam-se armadilhas sexuais de quatro cores – branco, amarelo, vermelho e azul. Em ambos os ensaios instalados, a cor vermelha foi a mais atractiva para os machos de *P. citri*, diferindo significativamente das armadilhas azuis e amarelas (sem diferenças significativas entre si), tendo a cor branca sido a segunda cor mais atractiva, não diferindo significativamente de nenhuma das outras (Antunes 2005).

Tendo presente o mecanismo cromático utilizado por muitos insectos em relação ao verde da folhagem, considerou-se como hipótese explicativa dos resultados anteriores, obtidos por Antunes (2005), a existência de contraste entre a cor da armadilha e o pano de fundo (a folhagem). Para avaliar esta hipótese, Pinto (2006) recorreu a um dispositivo diferente. Utilizou armadilhas sexuais cromotrópicas de maior dimensão (45cmx45cm), em que apenas a parte central, com 15cmx15cm, funcionou como superfície de captura, estando para o efeito coberta com uma substância adesiva. Pinto (2006) comparou sete combinações de três cores – vermelho, branco e amarelo – correspondentes a diferentes silhuetas de cor (interior/exterior): vermelho-vermelho, vermelho-branco, vermelho-amarelo, amarelo-amarelo, amarelo-vermelho, branco-branco e branco-vermelho. Os resultados não permitiram rejeitar a hipótese do contraste.

III. MATERIAL E MÉTODOS

1. Criação de machos de *Planococcus citri* (Risso)

Nos ensaios de preferência cromática realizados em condições controladas, utilizaram-se machos de *P. citri* (Risso) provenientes de duas populações distintas. Em duas das três séries de ensaios (20 ensaios de manhã e 20 ensaios de tarde), os machos eram provenientes de colónias recolhidas em pomares de laranjeira-doce da região de Silves, e criadas, há 24-28 gerações sem renovação de criações, em câmara climatizada ($24,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, $52,0 \pm 0,5\%\text{HR}$, fotoperíodo 00L:24E). Os machos utilizados na terceira série de ensaios (20 ensaios de manhã) corresponderam às duas primeiras gerações de colónias recolhidas no Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT), a 9 de Julho de 2008, e mantidas em condições de laboratório ($24,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, $50 \pm 0,5\%\text{HR}$, fotoperíodo natural).

As colónias de *P. citri* foram mantidas em brotos de batata (*Solanum tuberosum*) da variedade Desirée. Os processos de obtenção de brotos e de produção de cochonilhas-algodão foram realizados em espaços independentes, para evitar contaminações. A fase de abrolhamento das batatas ocorreu num compartimento do laboratório, a $22,0^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Os tubérculos utilizados, com um peso médio de 91g, foram lavados com água corrente e colocados em tabuleiros apropriados. Os tabuleiros foram cobertos com um tecido negro para impedir a formação de solanina (substância tóxica produzida pela batata na presença de luz que pode interferir no desenvolvimento das cochonilhas), e foram pulverizados diariamente com água até se obterem caules estiolados (brotos) com cerca de 5cm de comprimento.

As colónias foram mantidas em caixas de plástico (17cm x 17cm x 9cm) com tampa hermética com cinco orifícios de 3cm de diâmetro revestidos com *etamine* para permitir o arejamento. Colocaram-se cerca de oito batatas por caixa. Cada broto foi infestado com cerca de três sacos ovígeros retirados a fêmeas adultas de caixas de criação infestadas quatro semanas antes. Este processo foi repetido semanalmente. Cada caixa foi mantida durante quatro semanas, intervalo de tempo necessário à produção de posturas.

A partir das caixas de criação com três semanas, procedeu-se ao isolamento de machos na fase de pré-pupa e pupa (casulos) em pequenas caixas de plástico (raio = 5cm) com um orifício na tampa revestido a *etamine*. Os machos foram mantidos sobre rodela de papel durante uma semana, período necessário à obtenção de indivíduos adultos maturos. Deste

modo, garantiu-se a inexperiência dos machos utilizados nos ensaios. Também esta fase diferiu entre as duas origens (Silves e Tavira), tendo estes machos sido mantidos nas mesmas condições de criação das culturas mãe (câmara climatizada e condições de laboratório, respectivamente).

2. Caracterização das parcelas experimentais

Os ensaios de campo decorreram em 2007 e em 2008, em pomares de laranjeira-doce, na região do Algarve (Quadro 2). No primeiro ano, realizaram-se em dois períodos diferentes, entre 18 e 26 de Julho em Silves, numa parcela da Quinta do Ó e, entre 12 e 19 de Setembro, em Tavira, numa parcela de CEAT. No segundo ano, foram instalados na parcela CEAT a 16 de Julho e recolhidos a 30 de Julho 2008 (Anexo 26-28).

Não foram realizados tratamentos fitossanitários que prejudicassem o crescimento e desenvolvimento das populações de *P. citri*.

Quadro 2 – Caracterização das parcelas experimentais.

Pomar	Concelho	Freguesia	Ano de plantação	Cultivar	Porta- enxerto	Sistema de rega	Compasso (m x m)	Área (m ²)
Quinta do Ó	Vale da Vila	Silves	1988	Newhall	Troyer	Gota-a- gota	6 x 4	14448
CEAT*	Tavira	Santiago	1996	Navelina	Citranjeira troyer	Gota-a- gota	5,5 x 3,5	4000

* Centro de Experimentação Agrária de Tavira

3. Ensaios experimentais

3.1. Influência da cor da armadilha sexual na atracção dos machos adultos de *Planococcus citri* (Risso)

Conhecem-se as curvas de reflectância das armadilhas brancas, amarelas e vermelhas, utilizadas nos ensaios de campo e de laboratório, coincidentes com as utilizadas em 2006, por Pinto. Apesar de não se conhecerem as reflectâncias das armadilhas verdes utilizadas, dada a coincidência, entre os dados portugueses e israelitas, dos comprimentos de onda em que se verificam os valores máximos para as restantes modalidades, considerar-se-á o valor israelita (Anexos 30-31). Assim, os valores máximos de reflexão das armadilhas brancas (80%), verdes (valor desconhecido), amarelas (57%), e vermelhas (40%) ocorreram nos 422nm, 514nm, 558nm e 648nm, respectivamente. As armadilhas brancas apresentaram sempre nível de reflexão bastante superior ao das outras modalidades.

3.1.1. Ensaios de campo

Tendo por base a metodologia seguida por Antunes (2005), Lemos (2006) e Pinto (2006), a primeira amostragem (18 a 26 de Julho 2007, Quinta do Ó, Silves) de machos de *P. citri* foi efectuada de acordo com um sistema de casualização total (uma modalidade por árvore), com 10 repetições de cada modalidade. Utilizaram-se armadilhas cromotrópicas quadradas (15x15cm) de polipropileno alveolar com superfície adesiva (NAPVIS), com difusor de feromona sexual de *P. citri* (100µg) no centro. Optou-se por repetir três das quatro modalidades (cores) estudadas por Antunes (2005) e Lemos (2006), amarelo, vermelho e branco, e introduziu-se a modalidade verde, que funcionou como testemunha para avaliar a hipótese do contraste entre a armadilha e a cor do fundo (copa da árvore).

Segundo Franco & Carvalho (1991), apesar da mobilidade das fêmeas ao longo do seu ciclo de vida, *P. citri* manifesta tendência para a agregação, i.e., é frequente observar-se na mesma parcela, a ocorrência de árvores muito infestadas e de árvores pouco ou nada infestadas. Tendo em conta este comportamento, com o propósito de anular a variável “posição da armadilha no pomar”, na segunda e terceira datas de amostragem (12 a 19 de Setembro 2007 e 16 a 30 de Julho 2008, CEAT, Tavira), optou-se por um sistema de blocos casualizados (quatro modalidades por árvore). Para esse efeito, recorreu-se a um dispositivo de amostragem diferente ao utilizado na primeira amostragem e nos ensaios desenvolvidos nos anos anteriores. Utilizou-se um dispositivo quadrado (21,2cm x 21,2cm), construído em arame, com quatro armadilhas circulares (raio = 8,46cm) de polipropileno alveolar com superfície adesiva (NAPVIS), nos vértices, a 30cm do centro da estrutura, onde se fixou o difusor de feromona sexual de *P. citri* (100µg) (Fig.9). Deste modo, em cada árvore, as quatro modalidades (verde, vermelho, branco, amarelo) passaram a estar expostas exactamente às mesmas variáveis, nomeadamente à mesma densidade de machos. A posição de cada armadilha cromotrópica no dispositivo foi totalmente casualizada. Utilizaram-se 10 repetições, perfazendo um total de 40 armadilhas cromotrópicas.

As armadilhas foram colocadas no quadrante SE (Pinto 2006), na superfície da copa. Após o período de exposição no campo, foram transportadas para o laboratório, onde o número de machos de *P. citri* capturados em cada armadilha foi contabilizado com o auxílio de uma lupa binocular.



Fig.9 – Fotografia e esquema do dispositivo metálico (21,2cm x 21,2cm) utilizado, em cada bloco casualizado, na verificação da hipótese do contraste visual na resposta dos machos de *Planococcus citri* (Risso) na localização a curta distância de fontes de feromona sexual. O difusor com 100µg de feromona sexual de síntese foi fixado no centro da estrutura a cerca de 30cm do centro de cada uma das quatro placas cromotrópicas adesivas (verde, vermelho, branco e amarelo; raio = 8,46cm).

3.1.2. Ensaios em condições controladas de laboratório

Para avaliar a preferência cromática dos machos de *P. citri* em laboratório, utilizou-se um dispositivo, com 30cm de altura, construído em acrílico (94% de transmissão da luz), com uma arena central circular, com 30cm de diâmetro, com ligação a oito secções paralelepípedicas periféricas equidistantes do centro da arena central. Cada secção tinha 15cm de comprimento por 11,5cm de largura. Utilizou-se uma superfície de acrílico de 3mm de espessura para cobrir o dispositivo com o objectivo de evitar a fuga dos machos durante os ensaios (Fig.10).



Fig.10 – Dispositivo, em acrílico, utilizado nos ensaios de preferência cromática dos machos de *Planococcus citri* (Risso), realizados em condições controladas de laboratório. Dispositivo com 30cm de altura. Arena central com 30cm de diâmetro com ligação a oito secções de 15cm de comprimento por 11,5cm de largura, forradas com placas de polipropileno alveolar coloridas (verde, vermelho, branco, amarelo).

Utilizaram-se as quatro cores testadas em campo (verde, vermelho, branco, amarelo), com duas repetições. Cada par cromático ficou posicionado simetricamente. A posição de cada armadilha cromotrópica no dispositivo foi totalmente casualizada entre repetições. As armadilhas cromotrópicas foram aplicadas, com substância adesiva NAPVIS na sua

superfície, nas três faces laterais e na base de cada secção. A base circular da arena central foi forrada com papel preto. Escolheu-se esta cor por ter uma reflectância próxima de zero e, por princípio, não apresentar efeito atractivo / de retenção para os machos.

Os ensaios foram realizados numa sala a 23°C, com 40-45%HR e sem iluminação exterior.

Como a cor observada depende dos comprimentos de onda da luz sob a qual o objecto é observado (Chapman 1998b), a selecção do sistema de iluminação foi alvo de uma criteriosa selecção. Para a reprodução da composição espectral da luz solar na banda do visível, e da intensidade óptima requerida para a actividade de voo dos machos (ca. 400lux, segundo Moreno *et al.* 1984 e Antunes 2005), optou-se por uma lâmpada de multivapores (iodetos) metálicos, de 70W (Powerball HCI-T) (Fig.11). Este tipo de lâmpada, com filtro para a radiação ultravioleta, oferece uma excelente reprodução de cores, com um índice de restituição cromática (IRC), em relação ao sol, superior a 95%. É uma luz branca quente (tonalidade 3000°K), com uma reduzida dispersão de cores. Apresenta uma tonalidade de cor (temperatura de cor) constante ao longo de toda a sua vida útil e elevado fluxo luminoso. O sistema de iluminação foi suspenso a 2,60m da base do dispositivo, garantindo uma intensidade luminosa de ca. 400-450lux na base do dispositivo, valor medido através de um luxímetro (Extech 407026).



Fig.11 – Dispositivo de iluminação utilizado nos ensaios de preferência cromática dos machos de *Planococcus citri* (Risso), realizados em condições controladas de laboratório: lâmpada de multivapores (iodetos) metálicos, de 70W (Powerball HCI-T).

Os grupos de machos utilizados nos ensaios foram isolados com cerca de 29h de vida livre, i.e., apêndices caudais com comprimento não inferior a 0,7mm (Mouco 2006). Independentemente da série de ensaios, cada grupo de machos inexperientes foi isolado numa caixa de Petri pequena (5cm de diâmetro) 24-25h antes do ensaio e mantidos às escuras, no interior de caixas de cartão, numa câmara climatizada ($24,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, $52,0 \pm 0,5\%$ HR, fotoperíodo 00L:24E), até ao início do ensaio. Com os machos da população de Silves criada

em câmara climatizada, realizaram-se 20 ensaios de manhã, entre as 8:00 e as 10:00, e 20 ensaios de tarde, entre as 16:00 e as 18:00. Com os machos das primeiras duas gerações da população de Tavira, os 20 ensaios foram realizados de manhã, entre as 8:00 e as 10:00.

No início de cada ensaio, os machos foram expostos à luz e mantidos, durante 5 minutos, no centro da arena principal, sob a base da placa de Petri em que foram conservados durante as 24h que precederam o ensaio. Este período preliminar teve o objectivo de lhes permitir o estabelecimento de contacto visual com todas as modalidades e de minimizar possíveis efeitos de stress. Os ensaios tiveram a duração de 5 + 30 minutos. No final desse período contabilizou-se o número de machos retidos nas placas cromotrópicas adesivas de cada compartimento. Em cada ensaio (repetição) utilizaram-se entre 25 e 50 machos.

3.1.2. Análise estatística

Nos ensaios de preferência cromática, procedeu-se à análise de variância (ANOVA) dos dados, seguida da comparação de médias, através do teste *a posteriori* de Student-Neuman-Keuls (SNK), com base no programa SPSS, versão 15,0 para Windows. Considerou-se, como variável independente, a cor da armadilha. Como hipótese nula (H_0) admitiu-se não existirem diferenças entre o nível de capturas de machos de *P. citri* nas quatro modalidades (verde, vermelho, branco, amarelo).

No primeiro ensaio de campo, utilizou-se como variável dependente, o número de machos capturados por armadilha após transformação logarítmica, $\ln(x+0,5)$, para corrigir a não homogeneidade de variâncias (Sokal & Rohlf 1987).

Para os restantes ensaios (de campo e de laboratório), uma vez que se tratavam de testes de múltipla escolha, considerou-se como variável dependente a frequência relativa de capturas por armadilha, utilizando como referencial o número total de machos capturados em cada bloco (conjunto de quatro cores) (Wu *et al.* 2007). Ou seja, nos ensaios de campo, a variável dependente “proporção de machos” corresponde ao quociente entre o número de machos de *P. citri* capturados em cada uma das armadilhas cromotrópicas de cada dispositivo pelo número de machos de *P. citri* capturados no conjunto das quatro armadilhas do respectivo dispositivo. Nos ensaios realizados em laboratório, a “proporção de machos” corresponde, para cada ensaio, ao quociente entre o número de machos de *P. citri* capturados nas armadilhas cromotrópicas de cada modalidade (cor) pelo número de machos de *P. citri* capturados nas armadilhas das quatro modalidades. Na análise destes dados, utilizou-se a variável dependente submetida a transformação angular, $\text{Arcsin}(\text{SQRT}(x))$, recomendada sempre que se trabalha com proporções e os valores dos dados ultrapassam o intervalo compreendido entre 30 e 70% (Sokal & Rohlf 1987).

3.2. Influência da forma da armadilha sexual na atracção dos machos adultos de *Planococcus citri* (Risso)

3.2.1. Ensaio de campo

Avaliou-se a possível influência da forma das armadilhas sexuais na atracção a curta distância dos machos de *P. citri* a uma fonte de feromona sexual. Para o efeito, seleccionaram-se as duas cores que obtiveram os valores médios mínimos e máximos de capturas no ensaio de campo realizado por Antunes (2005), i.e., amarelo e vermelho. Para cada cor, foram estudadas duas formas com a mesma área (225cm^2): quadrada ($15\times 15\text{cm}$) e redonda (raio = $8,46\text{cm}$).

Na primeira data de amostragem (18 a 26 de Julho 2007, Quinta do Ó, Silves), o ensaio foi instalado de acordo com um sistema de casualização total (1 modalidade / árvore), com 10 repetições, tendo-se considerado quatro modalidades: armadilhas amarelas quadradas (amQ), amarelas circulares (amC), vermelhas quadradas (vmQ), vermelhas circulares (vmC).

Na segunda e terceira datas de amostragem (12 a 19 de Setembro 2007 e 16 a 30 de Julho 2008, CEAT, Tavira), à semelhança do sistema adoptado nos ensaios de preferência cromática desenvolvidos no campo, os ensaios foram instalados de acordo com um sistema de blocos casualizados, com 10 repetições, considerando como bloco a cor. Neste caso, utilizou-se um dispositivo em arame onde as duas formas de cada uma das cores foram fixadas a 60cm uma da outra, distando 30cm do difusor de feromona (Fig.12).

As armadilhas foram fixadas no quadrante SE (Pinto 2006), na superfície da copa. Após um período de exposição no campo de uma semana, as armadilhas foram transportadas para o laboratório, onde o número de machos de *P. citri* capturados em cada armadilha foi determinado, com o auxílio de uma lupa binocular.

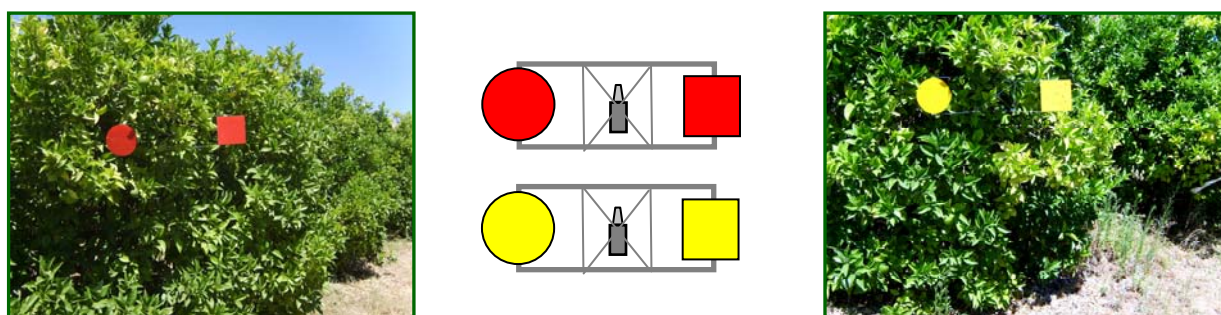


Fig.12 – Dispositivos utilizados na verificação da hipótese dos machos de *Planococcus citri* (Risso) serem capazes de diferenciar diferentes silhuetas no processo de localização a curta distância de fontes de feromona sexual. O difusor com $100\mu\text{g}$ de feromona sexual de síntese foi fixado no centro da estrutura, a 30cm do centro de cada uma das duas armadilhas cromotrópicas adesivas (quadrada, redonda; área= 225cm^2).

3.2.2. Análise estatística

No primeiro ensaio de campo, utilizou-se como variável dependente, o número de machos capturados por armadilha, tendo os dados sido submetidos a análise de variância (ANOVA), após transformação logarítmica $\text{Ln}(x+0,5)$, para corrigir a não homogeneidade de variâncias (Sokal & Rohlf 1987), seguida da comparação de médias, através do teste *a posteriori* de Student-Newman-Keuls (SNK).

Na segunda e terceira datas de amostragem, de acordo com um sistema de blocos casualizados (duas modalidades por árvore), trabalhou-se com as frequências relativas. A variável dependente “proporção de machos” corresponde ao quociente entre o número de machos de *P. citri* capturados em cada placa cromotrópica de cada dispositivo pelo número de machos de *P. citri* capturados no conjunto das duas placas cromotrópicas do respectivo dispositivo. Para cada uma das duas cores estudadas (amarelo, vermelho), os dados obtidos nos ensaios da forma foram submetidos a um teste de *t* a amostras independentes, após transformação angular, $\text{Arcsin}(\text{SQRT}(x))$, recomendada sempre que se trabalha com proporções e os valores dos dados ultrapassam o intervalo compreendido entre 30 e 70% (Sokal & Rohlf). Como hipótese nula (H_0), admitiu-se não existirem diferenças entre os níveis de capturas de machos de *P. citri* nas duas modalidades (forma quadrada, forma circular).

A análise estatística foi efectuada com base no programa SPSS, versão 15,0 para Windows.

4. Estudo da morfologia interna dos órgãos de visão dos machos adultos de *Planococcus citri* (Risso) através da Microscopia Electrónica de Transmissão

A Microscopia Electrónica de Transmissão (MET) baseia-se na penetração de feixes de electrões em tecidos biológicos de espessura muito reduzida (10µm nos cortes semifinos e 100nm nos cortes ultrafinos), para observação e identificação das estruturas celulares que o constituem. Tem aplicações muito variadas, na biologia animal e vegetal.

O protocolo de MET envolve nove passos: i) colheita do material biológico, ii) fixação, iii) pós-fixação, iv) desidratação, v) impregnação, vi) inclusão, vii) corte, viii) contrastação e xix) observação. A colheita do material biológico deve ser feita em condições tais que não danifique mecanicamente a peça biológica e deverá ser feita num tempo tão curto que impeça a sua alteração até à sua fixação. A fixação e a pós fixação têm por objectivos preservar a estrutura da célula num estado tão próximo da situação *in vivo* quanto possível, manter as células nos locais que ocupavam em vivo, impedir a actividade enzimática, estabilizar as moléculas de modo a impedir deslocamentos ou perdas durante os processamentos seguintes e preparar as estruturas para receberem contrastantes e suportarem o efeito do feixe de electrões. É a operação mais crítica, determinando o sucesso ou insucesso da preparação da amostra. A desidratação destina-se a retirar a água livre existente nas células/estruturas biológicas. A impregnação consiste na substituição do agente de desidratação pela solução de inclusão. A inclusão das amostras é feita em resina líquida, que polimeriza a altas temperaturas, solidificando. É este procedimento que permite o manuseamento das minúsculas amostras. Depois desta etapa, a amostra, incluída na resina, está pronta a ser cortada no ultramicrotomo. A contrastação dos cortes é essencial para a diferenciação das estruturas celulares presentes na amostra, para observação no MET (Salema & Santos 1992).

De seguida é apresentada uma breve descrição de cada uma das etapas do protocolo de MET:

i) Colheita do material biológico

As cabeças dos machos de *P. citri* foram destacadas numa placa de Petri com algumas gotas de solução fixadora (Fig.13).

ii) Fixação

A fixação foi feita a 4°C numa mistura de glualdeído 2-5% em tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7.2. O frasco com a solução fixadora, retirado do frigorífico no momento da sua utilização, foi mantido num recipiente com gelo durante a sua manipulação. As amostras foram sujeitas a uma primeira lavagem em tampão cacodilato 0,1M, pH 7.2, durante 2h (Fig.13).

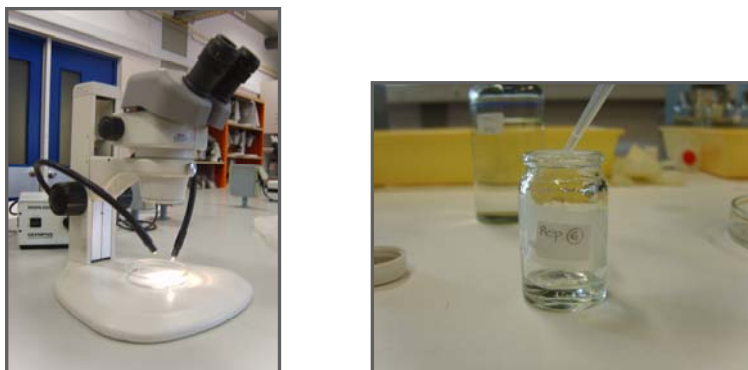


Fig.13 – Colheita do material biológico e fixação das amostras: destacamento das cabeças de machos de *Planococcus citri* (Risso) (à esquerda); troca de soluções dos frascos com as amostras – passo comum na fixação, pós-fixação, desidratação e impregnação (à direita).

iii) Pós-fixação

A pós-fixação foi efectuada com uma solução de tetróxido de ósmio 2% preparado em tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7.2, durante 1,5h. A amostra foi sujeita a uma segunda lavagem em tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7.2, durante 2h.

iv) Desidratação

A amostra foi emersa, durante 2h, em cada uma das concentrações da série ascendente de álcoois, nomeadamente 50%, 70%, 75% (única solução onde as amostras podem permanecer, durante o máximo de 24h, sem comprometer o protocolo), 80%, 85%, 90%, 95% (preparado a partir de álcool absoluto puro – pró-análise) e 100% (2h+2h+2h). Finalizou-se esta etapa com duas emersões sucessivas, de 2h cada, em óxido de propileno.

v) Impregnação

A impregnação foi realizada, à temperatura ambiente, a partir de óxido de propileno com EPON nas proporções indicadas: óxido de propileno:EPON (3:1)(2h), óxido de propileno : EPON (1:1)(2h), óxido de propileno : EPON (1:3)(2h), EPON final (mistura A + mistura B + polimerizador (DMP30))(2h).

vi) Inclusão

Colocou-se uma etiqueta identificativa da amostra nos poços. Com o auxílio de uma seringa colocou-se EPON no fundo dos poços. Cada amostra foi posicionada, com uma agulha, numa das extremidades de cada poço e os poços foram preenchidos com EPON. O molde, com os poços carregados e identificados, permaneceu na estufa, durante 3 dias a 60°C para polimerizar (Fig.14).



Fig.14 – Inclusão das amostras (da esquerda para a direita): molde de EPON com dois poços carregados; inclusão das amostras no EPON; estufa a 60°C onde foram mantidos, durante três dias, os moldes de EPON carregados e identificados para polimerização/solidificação da resina.

vii) Corte

Depois do bloco ter sido talhado em pirâmide com face de corte trapezoidal, com uma lâmina, realizaram-se cortes semi-finos (10µm) no ultramicrotomo (Leica Reithert ultracut S). Estes cortes foram depositados em lamelas para observação no microscópio óptico (Leica DMRA2). Depois de identificados os cortes com o tecido pretendido, passou-se para os cortes ultra-finos (100nm). Esses cortes foram depositados em grelhas (5 cortes / grelha) (Fig.15).



Fig.15 – Corte das amostras (da esquerda para a direita): EPON polimerizado talhado em pirâmide com face de corte trapezoidal; corte de uma amostra no ultramicrotomo; preparações dos cortes semi-finos (10µm) para microscópio óptico.

viii) Contrastação

Utilizaram-se dois contrastantes, o acetato de uranilo e o citrato de chumbo. As grelhas foram submersas em acetato de uranilo a 2%, numa placa de Petri, na presença de cristais de hidróxido de sódio (absorve o CO₂ atmosférico e evita que se formem depósitos de carbonato de cálcio), durante 20 minutos, com a face contendo as amostras voltada para baixo. O excesso de reagente foi absorvido por papel de filtro (grelha sobre o papel com as amostras na face superior durante 15 minutos) e a grelha, manuseada com uma pinça, foi lavada com movimentos verticais rápidos, durante 2-3 minutos, em dois gobelés com água decarbonizada/ultrapura e fervida. O excesso de água foi absorvido por papel de filtro (15 minutos). As grelhas foram submersas no segundo contrastante, citrato de chumbo durante outros 20 minutos ao fim dos quais se seguiram os mesmos passos indicados para o primeiro

contrastante. Na lavagem utilizaram-se novos gobelés. As grelhas, devidamente identificadas, foram guardadas em suporte apropriado (Fig.16).

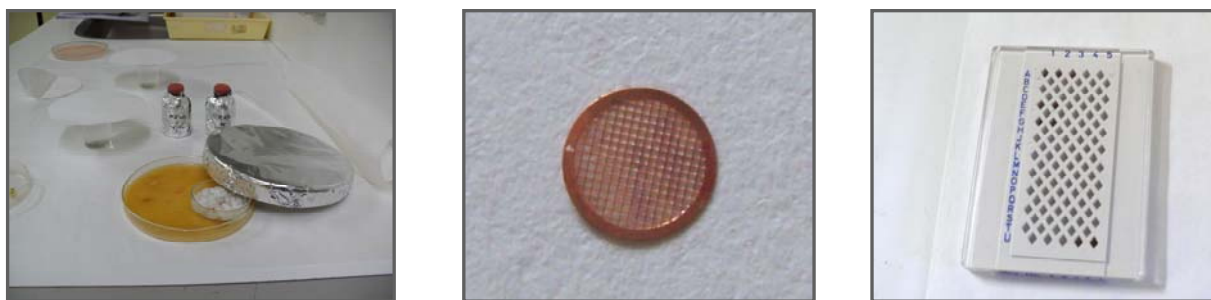


Fig.16 – Contrastação das amostras (da esquerda para a direita): material utilizado na etapa de contrastação; grelha (3mm de diâmetro, 150mesh) com os cortes; suporte para grelhas.

xix) Observação

Depois de contrastadas, as grelhas foram observadas no microscópio electrónico de transmissão (JEOL 207JEM - 100CXII) (Fig.17). As ampliações utilizadas variaram entre 2700x e 10000x.



Fig.17 – Observação das amostras no microscópio electrónico de transmissão.

IV. RESULTADOS

1. Influência da cor da armadilha sexual na atracção dos machos adultos de *Planococcus citri* (Risso)

1.1. Ensaio de campo

No primeiro ensaio da cor, instalado em Julho de 2007, segundo um sistema de casualização total (1 modalidade / árvore), não se verificaram diferenças significativas entre as quatro modalidades estudadas ($F_{3,36}=1,34$; $p=0,28$; Anexo 7). O número de machos de *P. citri* capturados por armadilha foi muito elevado, estando os valores médios compreendidos entre 1242 (amarelo) e 1675 machos (verde) (Fig.18).

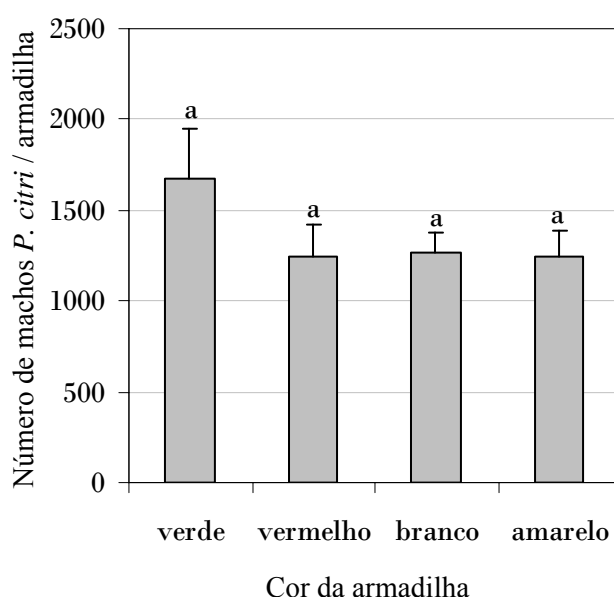


Fig.18 – Influência da cor da armadilha sexual (verde, vermelho, branco, amarelo) no número de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso) (média + erro padrão) capturados entre 18 e 26 Julho de 2007, na parcela da Quinta do Ó, em Silves. Não existem diferenças significativas entre barras gráficas com letras iguais ($p = 0,05$).

Os resultados dos ensaios realizados em Setembro de 2007 e Julho de 2008, instalados de acordo com o sistema de blocos casualizados (4 modalidades / árvore), foram consistentes (Fig.19), apesar das diferentes densidades de machos registadas nos dois anos: em 2007, registaram-se valores médios aproximados de 18 machos nas placas vermelhas, 13 nas brancas, 11 nas verdes e 7 nas amarelas (Anexo 2); em 2008, registaram-se aproximadamente 109 machos nas placas vermelhas, 54 nas brancas, 50 nas verdes e 43 nas amarelas (Anexo 3). Registaram-se diferenças significativas entre a cor vermelha e as cores verde e amarela, em 2007 ($F_{3,36}=4,57$; $p=0,008$; Anexo 8), e entre a cor vermelha e a cor amarela, em 2008 ($F_{3,36}=2,99$; $p=0,044$; Anexo 9). Em ambas as datas de amostragem, as diferenças entre a

proporção de machos capturados nas armadilhas brancas não diferiu significativamente de nenhuma das outras cores estudadas. Também não se verificaram diferenças significativas entre o verde e o amarelo.

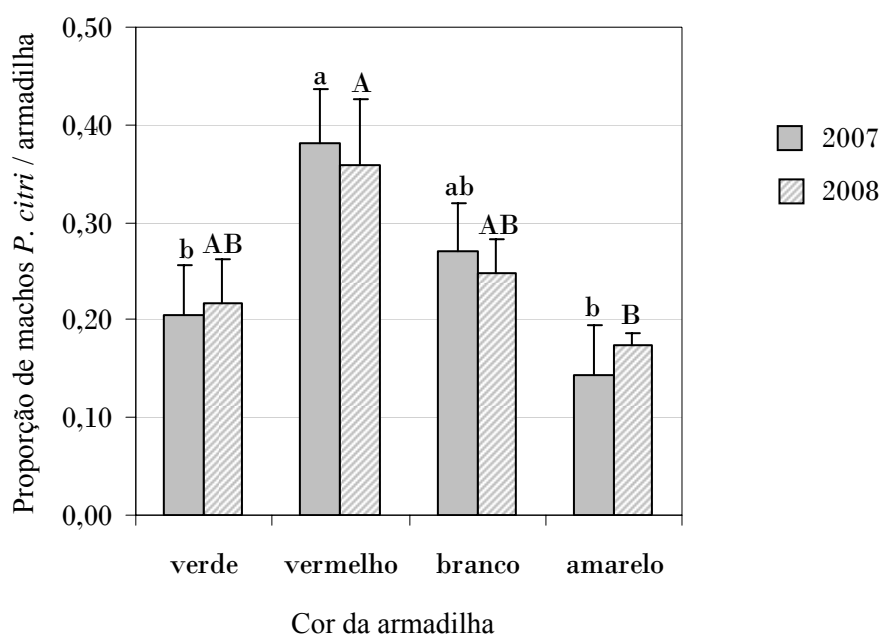


Fig.19 – Influência da cor da armadilha sexual (verde, vermelho, branco, amarelo) na proporção de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso) (média + erro padrão) capturados em cada bloco, entre 12 e 19 de Setembro de 2007 e entre 16 e 30 de Julho de 2008, na parcela de CEAT, em Tavira. Não existem diferenças significativas entre barras gráficas com letras iguais (SNK, $p=0,05$).

Uma vez que, durante a contagem dos machos nas armadilhas, se verificou existir uma tendência para um maior nível de capturas nas armadilhas situadas à esquerda, dentro de cada bloco, avaliou-se, também, a possível influência da posição das armadilhas no dispositivo (esquerda superior, esquerda inferior, direita superior, direita inferior) no nível de capturas (Fig.20). Em 2007, o nível de capturas nas armadilhas posicionadas no vértice superior esquerdo foi significativamente superior ao registado nas posições superior e inferior direitas ($F_{3,36}=5,03$; $p=0,005$; Anexo 10). Em 2008, os resultados foram semelhantes, tendo o nível de capturas nas armadilhas posicionadas no vértice superior esquerdo sido significativamente superior ao das restantes posições ($F_{3,36}=8,99$; $p<0,001$; Anexo 11).

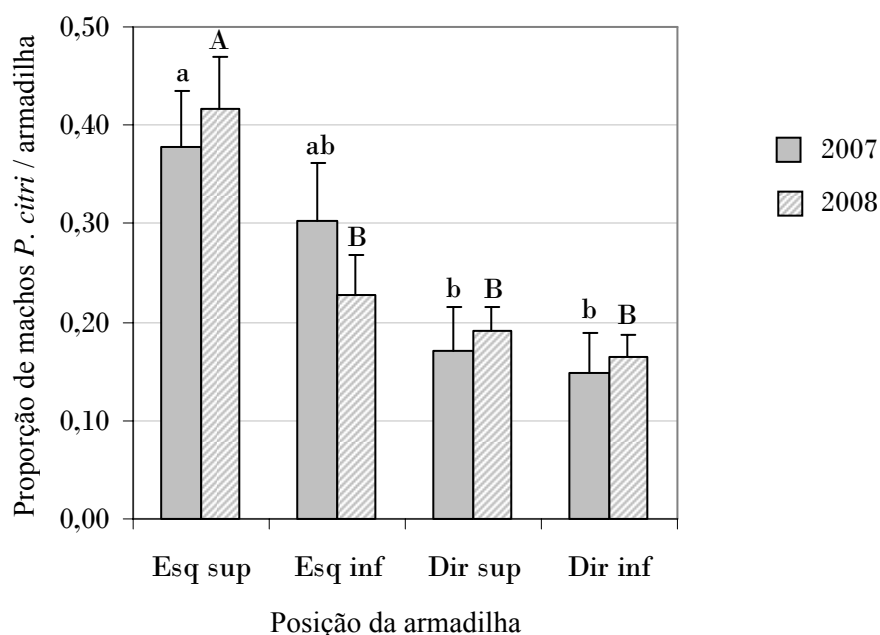


Fig.20 – Influência da posição da armadilha sexual no dispositivo (esquerda superior, esquerda inferior, direita superior, direita inferior) na proporção de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso) (média + erro padrão) capturados, independentemente da cor das armadilhas, entre 12 e 19 de Setembro de 2007 e entre 16 e 30 de Julho de 2008, na parcela de CEAT, em Tavira. Não existem diferenças significativas entre barras gráficas com letras iguais (SNK, $p=0,05$).

Se os níveis de capturas de machos nas armadilhas cromotrópicas dependessem apenas da posição, seria de esperar que a cor vermelha e/ou a cor branca (as cores que capturaram maior número de machos) tivessem sido as cores mais frequentes na posição superior esquerda (a posição associada aos maiores níveis de capturas). No entanto, em 2007, a cor que mais vezes ocupou essa posição foi a cor verde (a modalidade associada ao menor nível de capturas) (Quadro 3). A modalidade branca foi a que mais vezes ocupou o lado direito do dispositivo (posição associada aos menores níveis de capturas). Em 2008, a cor vermelha (a modalidade associada ao maior nível de capturas) foi a cor mais frequente nas posições extremas, superior esquerda (maiores capturas) e inferior direita (menores capturas). A principal diferença entre os dois anos é o menor nível de capturas nas armadilhas que ocuparam a posição inferior esquerda em 2008 relativamente a 2007 (Fig.20). Essa variação coincide com a redução da frequência de ocupação dessa posição pela cor vermelha e com o aumento da ocupação dessa posição pelas armadilhas amarelas e verdes (Quadro 3).

Quadro 3 – Frequência absoluta de cada modalidade das armadilhas sexuais cromotrópicas (verde, vermelho, branco, amarelo) em cada uma das quatro posições do dispositivo experimental (esquerda superior, esquerda inferior, direita superior, direita inferior) nos ensaios realizados em Setembro de 2007 e em Julho de 2008.

2007					2008				
	verde	vermelho	branco	amarelo		verde	vermelho	branco	amarelo
esq sup	4	2	2	2	esq sup	2	4	3	1
esq inf	1	5	2	2	esq inf	3	1	3	3
dir sup	2	1	3	4	dir sup	2	1	2	5
dir inf	3	2	3	2	dir inf	3	4	2	1

1.2. Ensaios em condições controladas de laboratório

Nos ensaios realizados com a população de Silves, criada em câmara climatizada na ausência de fotoperíodo, foram utilizados 742 machos nos 20 ensaios realizados de manhã (Anexo 4) e 750 nos 20 ensaios realizados de tarde (Anexo 5). Nos ensaios realizados com a população de Tavira, criada com exposição ao fotoperíodo natural, foram utilizados 746 machos (Anexo 6). O número médio de machos testados em cada repetição foi de aproximadamente 37 nos três conjuntos de ensaios (Anexo 4-6).

Nos ensaios realizados com a população de Silves, a grande diferença comportamental entre os machos testados nos dois períodos do dia manifestou-se na preferência pela cor branca nos ensaios da tarde (Fig.21). Nos ensaios da manhã, a cor vermelha, associada aos maiores níveis de capturas, diferiu significativamente das restantes três cores. O amarelo e o verde não diferiram entre si. O branco, associado aos menores níveis de capturas, diferiu de todas as outras cores ($F_{3,76}=35,61$; $p<0,001$; Anexo 12). Nos ensaios da tarde, a cor mais atractiva para os machos de *P. citri* foi o branco, que diferiu significativamente das outras três cores estudadas. O vermelho, a segunda cor mais atractiva, também diferiu significativamente de todas as outras. O amarelo e verde não diferiram entre si ($F_{3,76}=49,60$; $p<0,001$; Anexo 13).

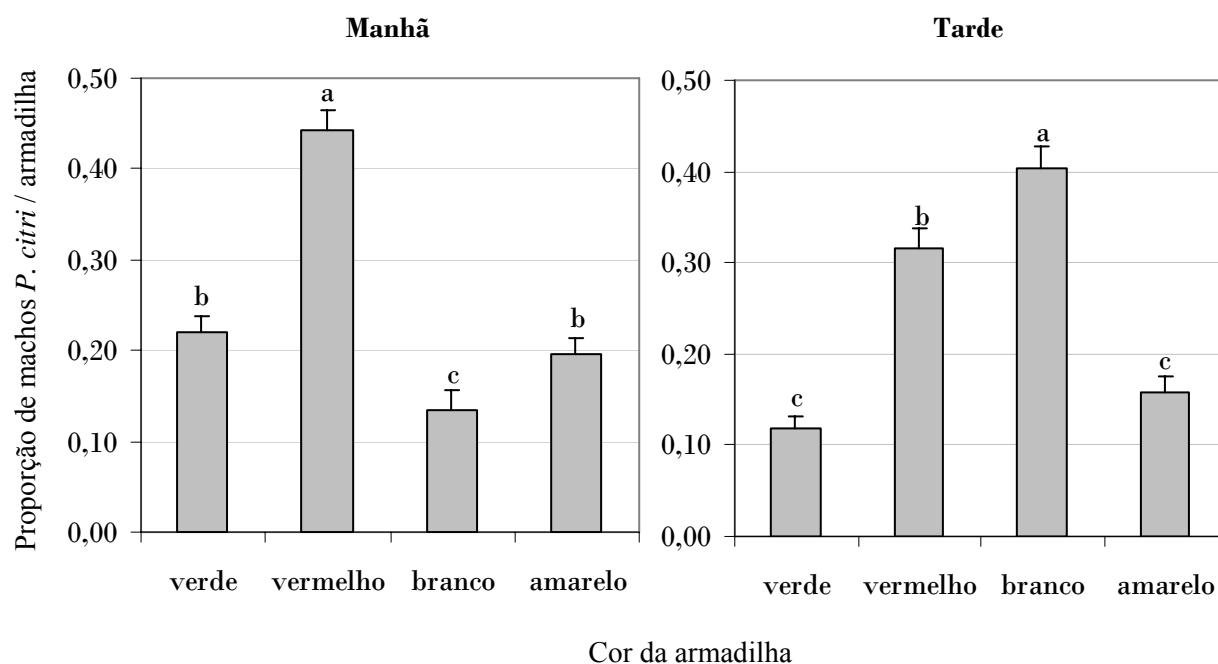


Fig.21 – Influência da cor da armadilha (verde, vermelho, branco, amarelo) na proporção de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso) (média + erro padrão) capturados nos 20 ensaios realizados de manhã e nos 20 ensaios realizados de tarde com a população de Silves, criada em câmara climatizada com fotoperíodo 00L:24E. Não existem diferenças significativas entre barras gráficas com letras iguais (SNK, $p=0,05$).

Nos ensaios realizados com as duas primeiras gerações da população de Tavira (Fig.22), o padrão de capturas foi coincidente com o obtido nos ensaios de campo realizados em 2007 e em 2008 (Fig.19). E, agrupando os dados obtidos nos 20 ensaios realizados de manhã com os 20 ensaios realizados de tarde, com a população de Silves, obteve-se o mesmo padrão (Fig.22). A análise estatística dos 20 ensaios com a população de Tavira ($F_{3,76}=24,51$; $p<0,001$; Anexo 15) e dos 40 ensaios (manhãs + tardes) com a população de Silves ($F_{3,156}=23,66$; $p<0,001$; Anexo 14) mostrou que o vermelho diferiu significativamente de todas as outras cores e que, o branco, a segunda mais atractiva, também diferiu das restantes. O verde e o vermelho não diferiram entre si (Fig.22).

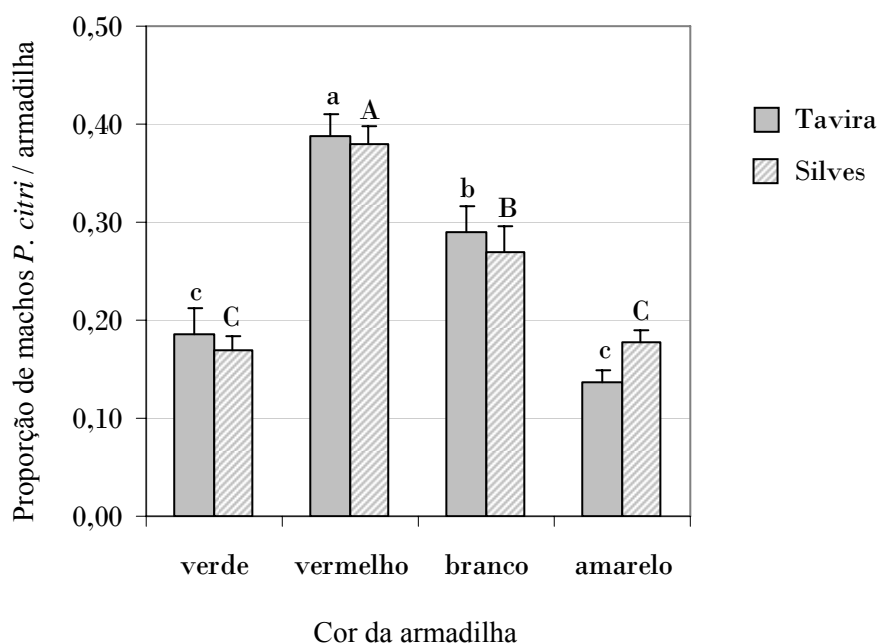


Fig.22 – Influência da cor da armadilha (verde, vermelho, branco, amarelo) na proporção de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso) (média + erro padrão) capturados nos 20 ensaios de laboratório com a população de Tavira, criada com exposição ao fotoperíodo natural, e nos 40 ensaios de laboratório (20 ensaios de manhã + 20 ensaios de tarde) com a população de Silves, criada em câmara climatizada com fotoperíodo 00L:24E. Não existem diferenças significativas entre barras gráficas com letras iguais (SNK, $p=0,05$).

Na análise dos resultados obtidos nas três séries de ensaios, considerou-se o tipo de locomoção utilizado pelos machos nas respostas cromáticas. Assim, a escolha em voo dos machos foi diferenciada da escolha em marcha (Fig.23). Os machos capturados nas placas verticais foram contabilizados como respostas em voo. Também os machos capturados nas placas horizontais, que não estivessem na fronteira entre a placa cromotrópica adesiva posicionada na base de cada compartimento e o papel preto da base octogonal do dispositivo, foram agrupados neste comportamento. Consideraram-se respostas em marcha apenas os machos retidos nas placas adesivas horizontais, na periferia do papel preto.

Apesar de se ter verificado uma tendência para maior actividade de voo na resposta à cor branca, não se verificaram diferenças significativas entre cores, nem nos ensaios com a população de Silves realizados de manhã ($F_{3,76}=0,66$; $p=0,58$; Anexo 16), nem nos ensaios de Silves realizados de tarde ($F_{3,76}=1,40$; $p=0,25$; Anexo 17), nem nos ensaios com a população de Tavira realizados de manhã ($F_{3,76}=0,54$; $p=0,65$; Anexo 18).

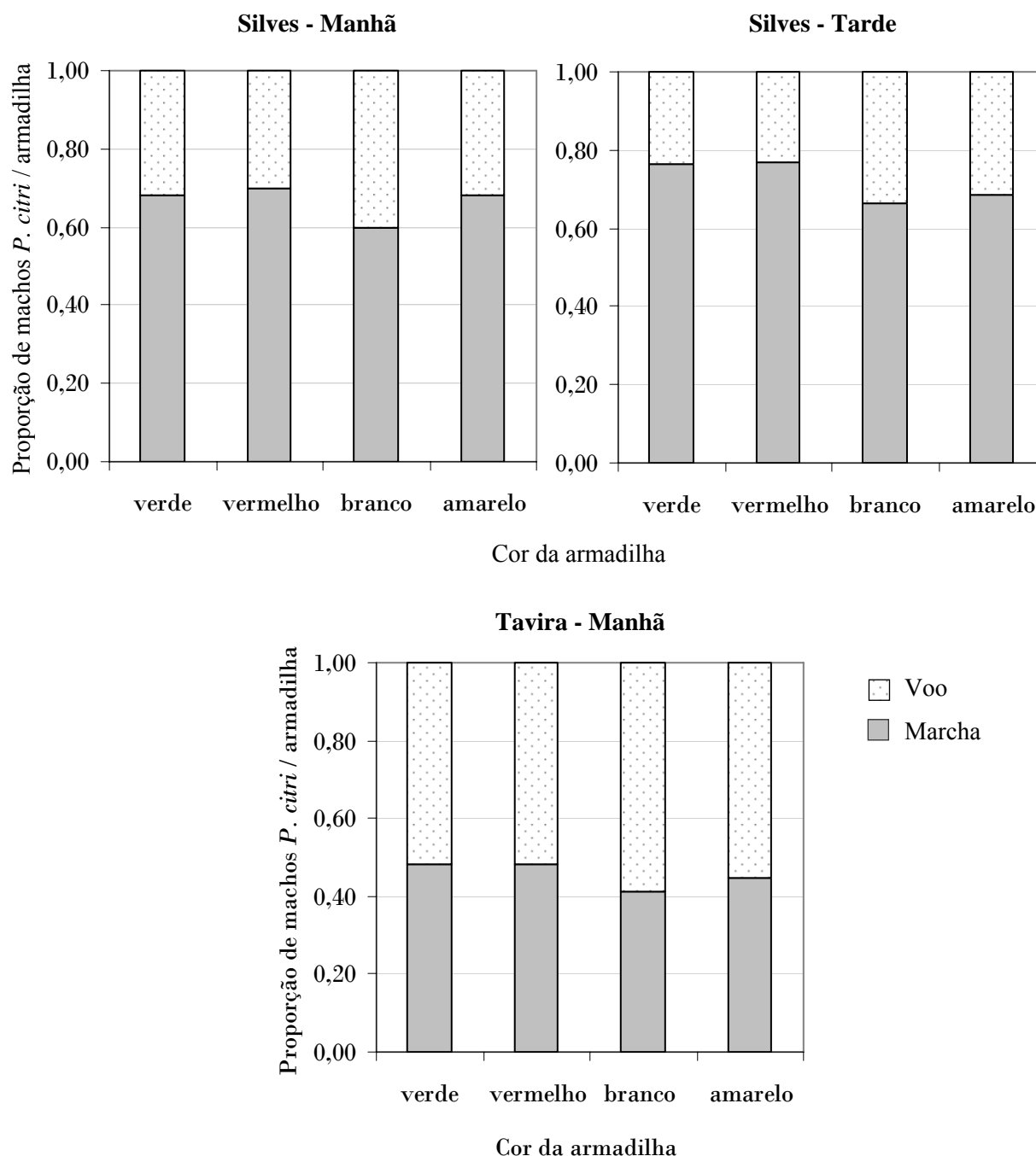


Fig.23 – Tipo de locomoção utilizado pelos machos adultos de *Planococcus citri* (Risso) (voo, marcha) nas respostas cromáticas (verde, vermelho, branco, amarelo), nos três tipos de ensaios realizados em condições controladas (Silves manhã, Silves tarde, Tavira manhã).

A grande diferença entre ensaios foi a maior actividade de voo dos machos de Tavira, com um máximo de apenas duas gerações em laboratório com fotoperíodo natural, que representou 52-59% das respostas. Nos ensaios da manhã com a população de Silves, com um máximo de 28 gerações em laboratório sem renovação de criações, com fotoperíodo 0E:24E, as respostas em voo representaram apenas 30-40% das respostas e, nos ensaios da tarde, representaram uma proporção ainda mais pequena, entre 23-33% (Fig.23).

2. Influência da forma da armadilha sexual na atração dos machos adultos de *Planococcus citri* (Risso)

No ensaio instalado em Julho de 2007, segundo um sistema de casualização total (1 modalidade / árvore), apesar das armadilhas circulares terem capturado um número médio de machos superior ao das quadradas, em ambas as cores estudadas (Fig.24), não se registaram diferenças significativas entre modalidades ($F_{3,36}=0,83$; $p=0,49$; Anexo 19).

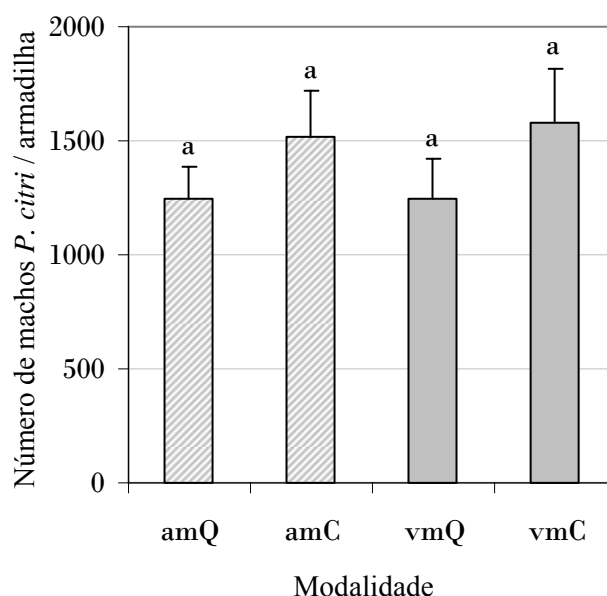


Fig.24 – Influência da forma das armadilha sexual (Q - quadrada, C - circular) no número de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso) (média + erro padrão) capturados nas duas cores estudadas (am - amarelo, vm - vermelho), entre 18 e 26 de Julho de 2007, na parcela da Quinta do Ó, em Silves. Não existem diferenças significativas entre barras gráficas com letras iguais ($p=0,05$).

Nos ensaios desenvolvidos em Setembro de 2007 e em Julho de 2008 de acordo com um sistema de blocos casualizados (2 modalidades / árvore) não se observou efeito significativo da forma da armadilha na proporção de machos capturados (Fig.25), tanto no caso das armadilhas amarelas em 2007 ($t_{18}=0,21$; $p=0,84$; Anexo 20) e em 2008 ($t_{18}=0,29$; $p=0,77$; Anexo 21), como das armadilhas vermelhas em 2007 ($t_{18}=0,99$; $p=0,33$; Anexo 20) e em 2008 ($t_{18}=0,82$; $p=0,42$; Anexo 21).

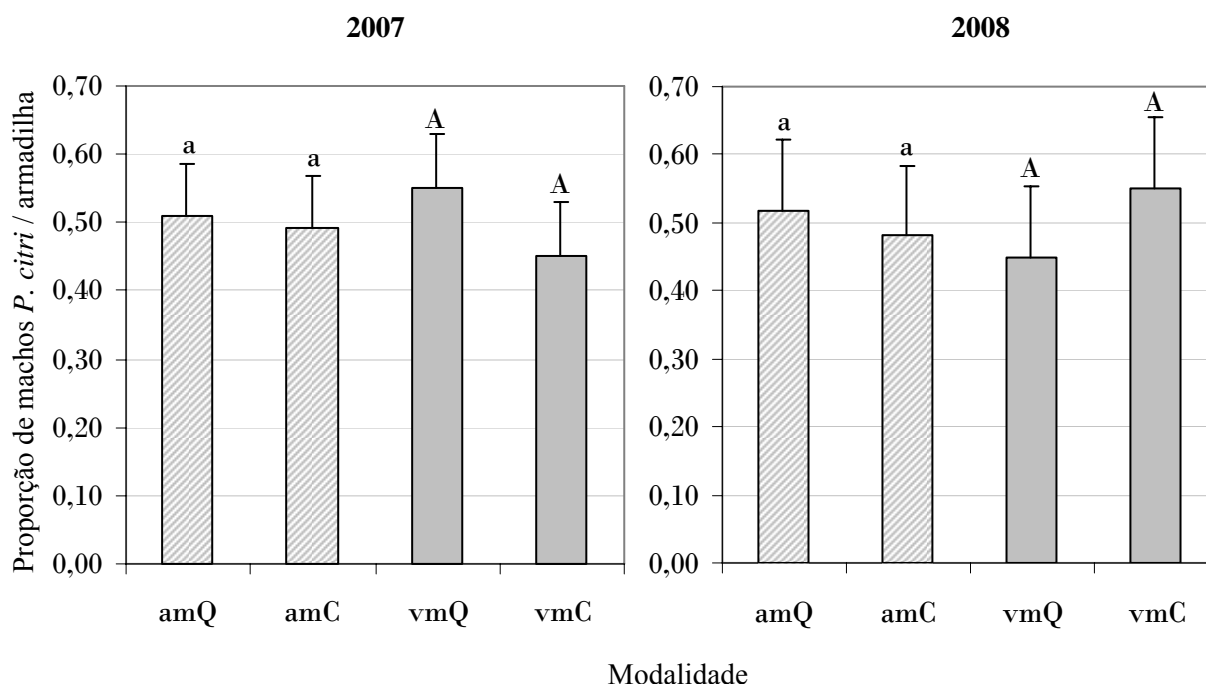


Fig.25 – Influência da forma da armadilha sexual (Q - quadrada, C - circular) na proporção de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso) (média + erro padrão) capturados, para as duas cores estudadas (am - amarelo, vm - vermelho), entre 12 e 19 de Setembro de 2007 e entre 16 e 30 de Julho de 2008, na parcela de CEAT, em Tavira. Não existem diferenças significativas entre as barras gráficas com letras iguais (teste t, $p=0,05$).

Na análise dos resultados verificou-se, também, que as armadilhas posicionadas do lado esquerdo do dispositivo capturaram um número de machos significativamente maior do que as posicionadas do lado direito, independentemente da cor e da forma, tanto em 2007 ($t_{38}=5,84$; $p<0,001$; Anexo 22), como em 2008 ($t_{38}=20,52$; $p<0,001$; Anexo 23) (Fig.26).

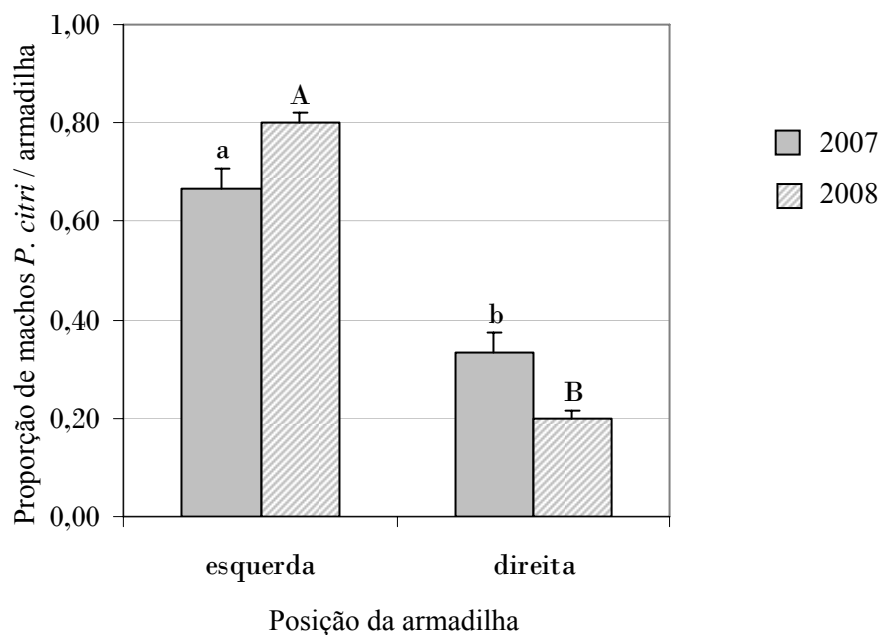


Fig.26 – Influência da posição da armadilha sexual no dispositivo experimental (esquerda, direita) na proporção de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso) (média + erro padrão) capturados, independentemente da forma e da cor das armadilhas, entre 12 e 19 de Setembro de 2007 e entre 16 e 30 de Julho de 2008, na parcela de CEAT, em Tavira. Não existem diferenças significativas entre as barras gráficas com letras iguais (teste t, $p=0,05$).

Analisando a posição das armadilhas nas 10 repetições verificou-se que no ensaio de 2007 seis das dez armadilhas quadradas ficaram posicionadas do lado esquerdo, mais favorecido pelo vento (Anexo 2). Em 2008, cada posição foi ocupada pelo mesmo número de modalidades (Anexo 3).

Nas duas repetições do ensaio da forma, realizado segundo um sistema de blocos casualizados, verificou-se maior nível de capturas nas armadilhas vermelhas relativamente às armadilhas amarelas (Fig.27). As diferenças apenas foram estatisticamente significativas no segundo ano de amostragem, em que a densidade média de machos foi superior ($t_{38}=1,86$; $p=0,071$ (2007, Anexo 24); $t_{38}=3,45$; $p=0,001$ (2008, Anexo 25)).

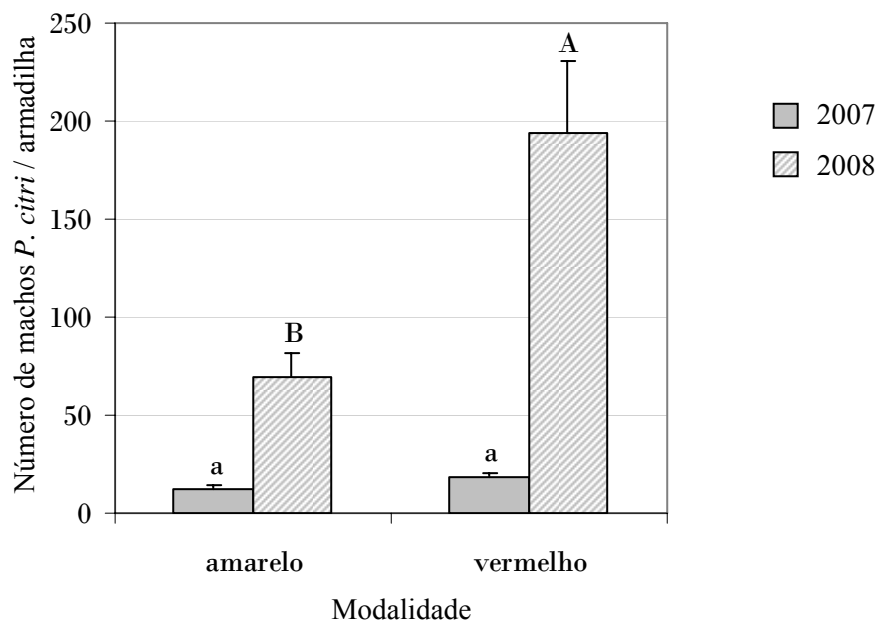


Fig.27 – Influência da cor da armadilha sexual (amarelo, vermelho) utilizada no ensaio da forma no número de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso) (média + erro padrão) capturados em cada bloco, entre 12 e 19 de Setembro de 2007 e entre 16 e 30 de Julho de 2008, na parcela de CEAT, em Tavira. Não existem diferenças significativas entre barras gráficas com letras iguais (teste t, $p=0,05$).

3. Estudo da morfologia interna dos órgãos de visão dos machos adultos de *Planococcus citri* (Risso) através da Microscopia Electrónica de Transmissão

A identificação dos diferentes tipos celulares presentes nas estruturas visuais dos machos adultos de *P. citri* baseou-se na descrição da morfologia interna dos três tipos de olhos presentes nos insectos, por Carvalho (1986) e Gullan & Cranston (1994), apresentada no ponto 2.3. do capítulo da revisão bibliográfica, nos esquemas das estruturas visuais encontrados em Chapman (1998a) e Gullan & Cranston (1994), e nas imagens de Microscopia Electrónica de Transmissão (MET) de olhos apresentadas nos artigos consultados (Duelli 1978; Carlson & Chi 1979; Buschbeck *et al.* 2003; Mayer 2006; Berry *et al.* 2007a, b).

A Fig.28 ilustra a posição relativa dos três tipos de olhos simples no mesmo plano da cabeça dos machos adultos de *P. citri*. Na imagem, apenas se observa um olho dorsal, um olho ventral e um olho lateral devido à inclinação do corte. Refira-se a dificuldade de gerir a inclinação da amostra (completamente enegrecida devido ao tetróxido de ósmio) com a inclinação do EPON (no suporte do ultramicrotomo) e da faca de diamante, e com a reduzida dimensão dos olhos.

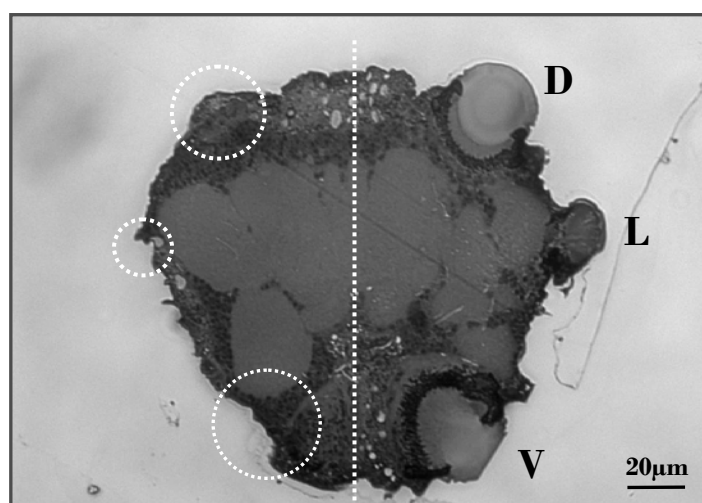


Fig.28 – Imagem de microscopia óptica de um corte longitudinal semifino (10µm) da cabeça de um macho adulto de *Planococcus citri* (Risso), evidenciando os três tipos de olhos simples: olho dorsal (D), olho ventral (V) e olho lateral (L). A linha branca tracejada representa o eixo de simetria da cabeça do macho. As circunferências brancas tracejadas representam a localização dos olhos que não foram incluídos no corte (Leonor Campos e Marisa Pardal).

Através da ampliação da figura anterior observa-se que as camadas de células fotoreceptoras e de células pigmentares são mais espessas no olho ventral do que no olho dorsal (Fig.29).

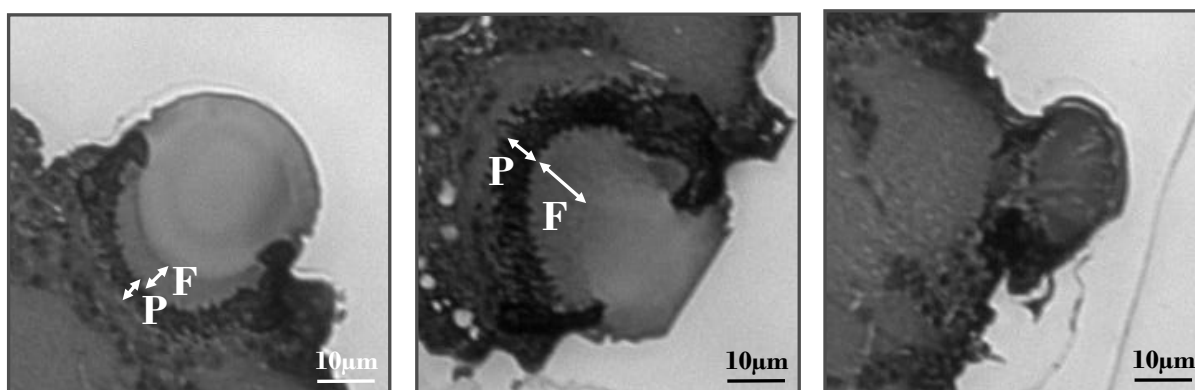


Fig.29 – Pormenores da Fig.28. Da esquerda para a direita: olho dorsal; olho ventral; olho lateral. Células fotoreceptoras (F); células pigmentares (P) (Leonor Campos e Marisa Pardal).

As imagens da Fig.30, obtidas por MET permitem comparar a dimensão das lentes dos olhos dorsais, ventrais e laterais de *P. citri*, com aproximadamente 22, 27 e 13 μm de diâmetro (medido longitudinalmente), respectivamente. São também perceptíveis as protuberâncias da superfície da córnea presentes nos olhos dorsal e ventral. É possível distinguir quatro tipos de células: células corneanas, células fotoreceptoras e dois tipos de células pigmentares (Fig.30 e 31).

Os três tipos de olhos apresentam analogias quanto ao tipo de células que o constituem assim como na sua organização (Fig.30-32).

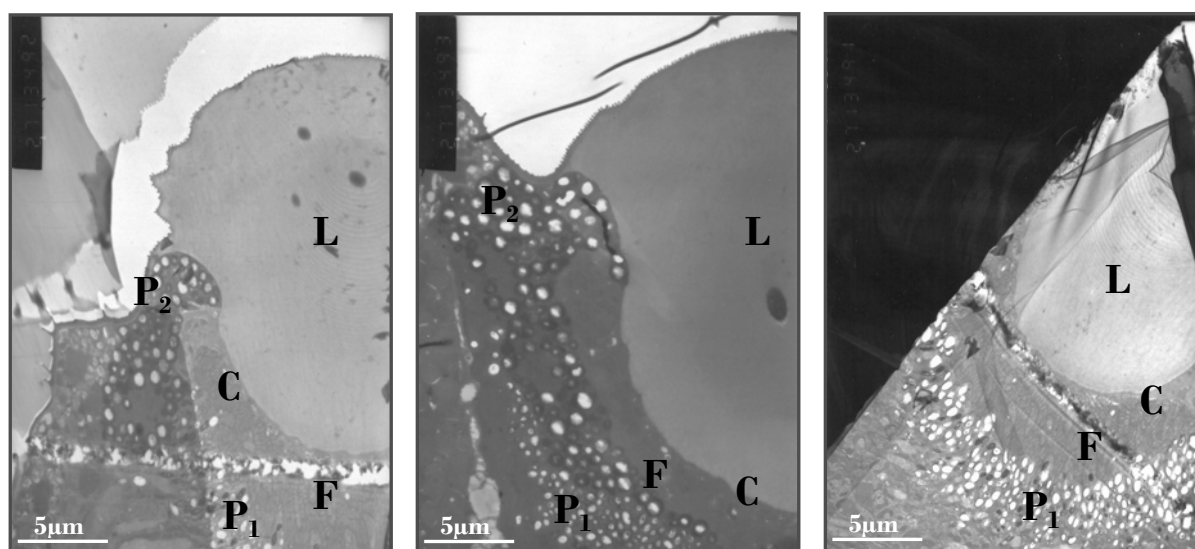


Fig.30 – Imagens de Microscopia Electrónica de Transmissão de cortes longitudinais ultrafinos (100nm) dos olhos simples de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso). Dimensão relativa das lentes (L) dos três tipos de olhos (da esquerda para a direita): olho dorsal; olho ventral; olho lateral. Distinguem-se as protuberâncias da superfície da córnea do olho dorsal e ventral, e quatro tipos de células: células corneanas (C); células fotoreceptoras (F); e dois tipos de células pigmentares (P₁ e P₂) (Leonor Campos e Marisa Pardal).

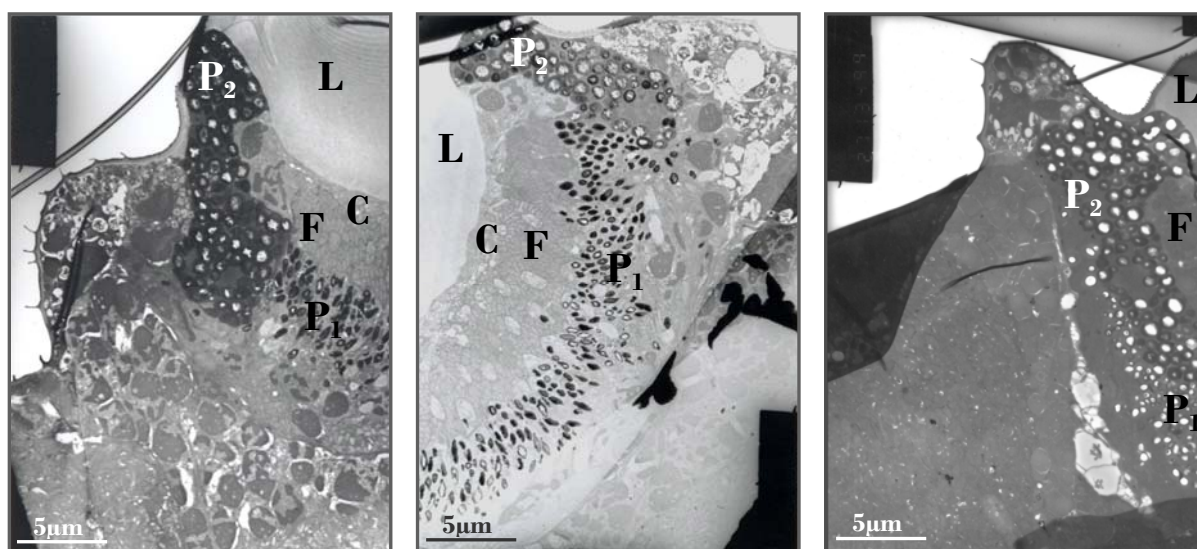


Fig.31 – Imagens de Microscopia Electrónica de Transmissão de cortes longitudinais ultrafinos (100nm) de um olho dorsal (à esquerda e ao centro) e de um olho ventral (à direita) de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso). Arranjo dos diferentes grupos celulares em torno da lente (L): células corneanas (C); células fotoreceptoras (F); e dois tipos de células pigmentares (P_1 e P_2) (Leonor Campos e Marisa Pardal).

Adjacente à lente distingue-se uma camada celular, pouco definida devido ao baixo contraste com a coloração da lente, constituída pelas células corneanas, compactas, sem nenhum arranjo particular. Segue-se para o interior da cabeça, outra camada de células, mais espessa e mais escura, as células visuais (células da retina ou células nervosas), que contribuem para a formação das células fotoreceptoras (os rabdomas), onde estão localizados os pigmentos visuais. A envolver esta camada estão células pigmentares, muito coradas, convergentes em relação à lente. Existe ainda outro grupo de células pigmentares, redondas, localizadas superficialmente, adjacentes à lente, que se estendem para o interior da cabeça até ao nível da camada pigmentar convergente. A camada de células visuais fica, assim, delimitada externamente pelas células corneanas, internamente pelas células pigmentares convergentes e, lateralmente, pelas células pigmentares circulares. A espessura da camada de células fotoreceptoras não é uniforme, sendo mais espessa na área central do olho, aspecto bem patente na Fig.32. Na Fig.32 e na Fig.33 consegue-se distinguir muito bem a membrana basal a separar a camada de axónios das células visuais da zona sináptica.

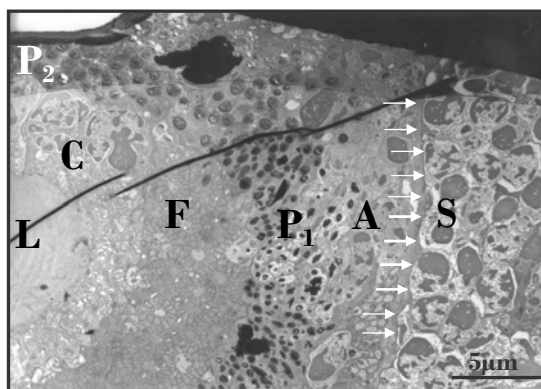


Fig.32 – Imagem de Microscopia Electrónica de Transmissão de um corte oblíquo ultrafino (100nm) de um olho lateral. Organização dos diferentes tipos celulares associados ao processamento da informação visual, em relação à lente (L): células corneanas (C); células fotoreceptoras (F); os dois tipos de células pigmentares (P_1 e P_2) e os axónios das células visuais (A). As setas indicam a membrana basal, que delimita a zona sináptica (S). (Leonor Campos e Marisa Pardal)

Na Fig.33, é possível distinguir uma faixa, ao centro, de estruturas globosas, que constitui a zona sináptica, com os axónios das células visuais do lado esquerdo e os axónios de neurónios de segunda ordem do lado direito.

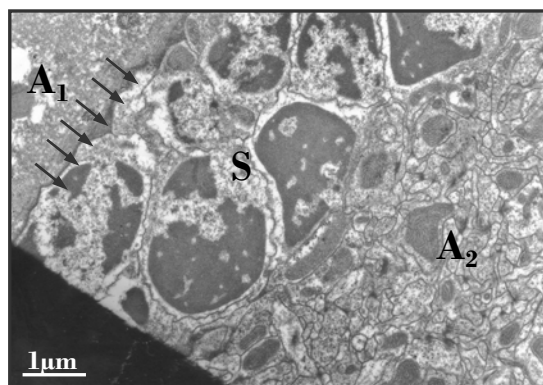


Fig.33 – Imagem de Microscopia Electrónica de Transmissão de um corte oblíquo ultrafino (100nm) de um olho lateral de um macho adulto de *Planococcus citri* (Risso). Axónios das células visuais (A_1) que atravessam a membrana basal do olho e que terminam na zona sináptica (S), mesmo atrás do olho, onde transmitem os impulsos nervosos às dendrites de neurónios de segunda ordem. Daí partem os axónios dos neurónios de segunda ordem (A_2) (Leonor Campos e Marisa Pardal).

Os dois tipos de células pigmentares são idênticas nos três tipos de olhos (Fig.34). Na imagem à esquerda estão representadas as células pigmentares convergentes à lente. Na imagem à direita estão representadas as células pigmentares, mais superficiais, adjacentes à lente. Estas células são facilmente diferenciáveis. Enquanto as primeiras são circulares a filiformes, sem um núcleo muito contrastado, as segundas são invariavelmente redondas, com células sem núcleo diferenciado, alternadas com células com um núcleo bastante contrastado (muito claro) a ocupar quase a totalidade do citoplasma.

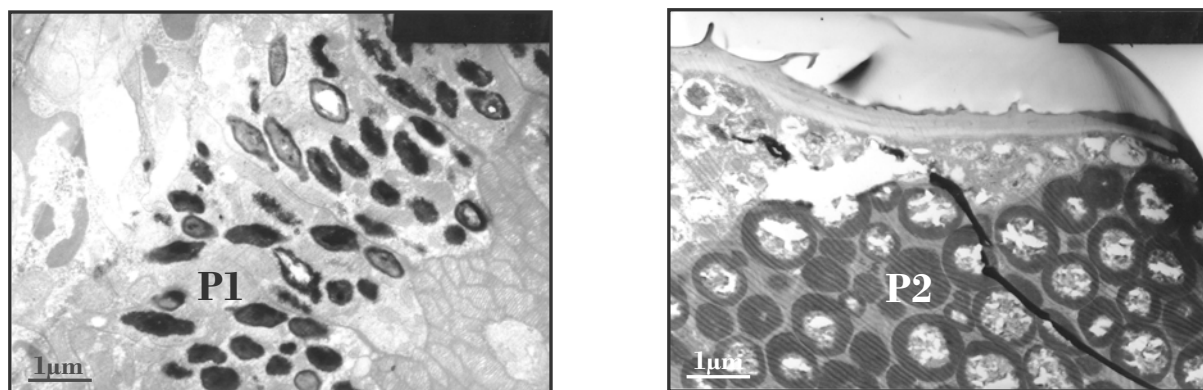


Fig.34 – Imagem de Microscopia Electrónica de Transmissão de dois cortes longitudinais ultrafinos (100nm) dos olhos dorsais de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso). Dois tipos de células pigmentares (P₁ e P₂), comuns aos três tipos de olhos (Leonor Campos e Marisa Pardal).

No corte longitudinal dos olhos ventrais (Fig.35-36), é possível observar as células fotoreceptoras (rabdomas). Distinguem-se os rabdomeros, constituídos pelos *microvilli*, compactos e paralelos, e as células visuais adjacentes, alongadas. No corte longitudinal dos olhos dorsais e laterais, no entanto, as células fotoreceptoras apresentam uma configuração atípica, distinta da encontrada nos olhos ventrais. O rabdoma é constituído por cerca de 20 rabdomeros, contíguos, que formam múltiplas estruturas fechadas em torno do citoplasma de cada célula visual, onde se localizam os organelos celulares. Os rabdomas de células vizinhas estão adjacentes uns aos outros. É também visível a presença dos *microvilli*, justapostos e com a mesma orientação.

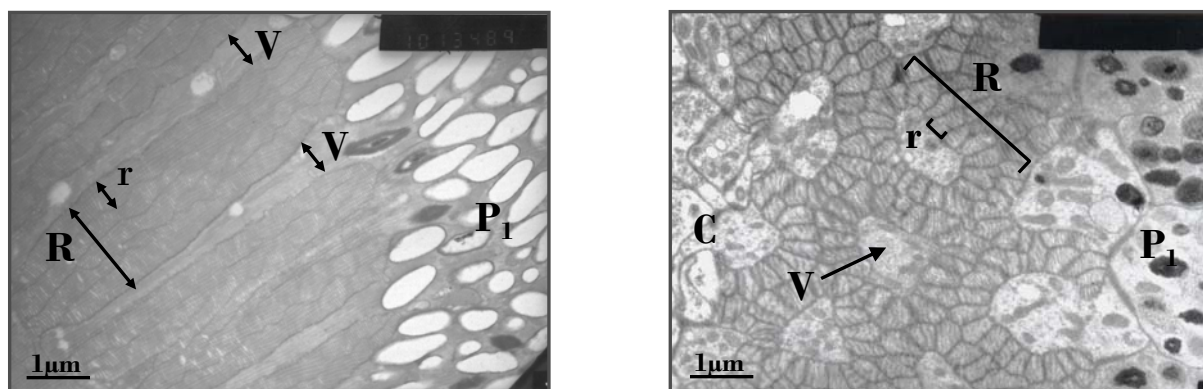


Fig.35 – Imagens de Microscopia Electrónica de Transmissão de dois cortes longitudinais ultrafinos (100nm) dos olhos de machos adultos de *Planococcus citri* (Risso). Diferença entre o arranjo e/ou orientação das células fotoreceptoras dos olhos ventrais (à esquerda) e dos olhos dorsais e laterais (à direita). Células corneanas (C); células visuais (V); células fotoreceptoras - rabdomas (R); rabdomeros (r), células pigmentares convergentes (P1) (Leonor Campos e Marisa Pardal).

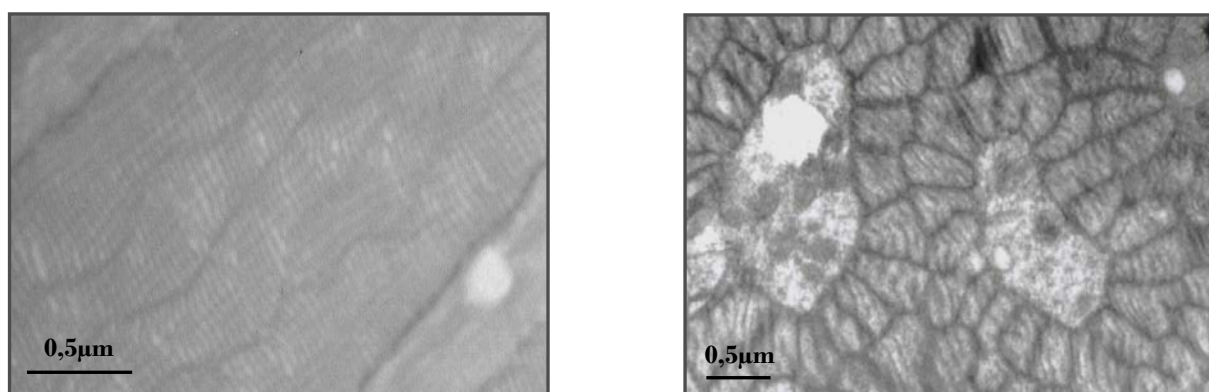


Fig.36 – Pormenores da Fig.35, evidenciando a organização dos *microvilli*, justapostos, todos com a mesma orientação, dos olhos ventrais (à esquerda) e dos olhos dorsais e laterais (à direita).

Na Fig.37 podem observar-se as protuberâncias existentes na superfície da córnea dos olhos dorsais e ventrais dos machos adultos de *P. citri*, com 130 a 140nm de comprimento, também visíveis nas imagens de Microscopia Electrónica de Varrimento (ver Cap.II, 2.4.).

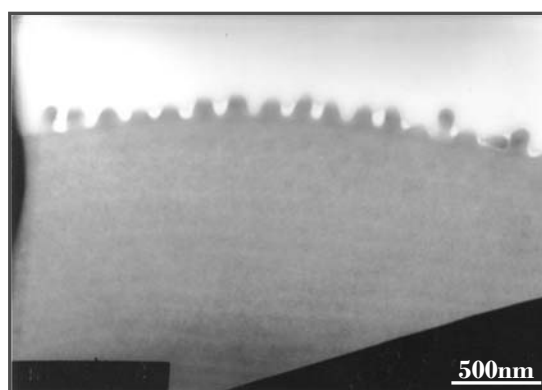


Fig.37 – Imagem de Microscopia Electrónica de Transmissão de um corte longitudinal ultrafino (100nm) da lente de um olho dorsal de um macho adulto de *Planococcus citri* (Risso), evidenciando a existência de protuberâncias na superfície da córnea (Leonor Campos e Marisa Pardal).

V. DISCUSSÃO

1. Influência da cor da armadilha sexual na atracção dos machos adultos de *Planococcus citri* (Risso)

1.1. Preferência pelas armadilhas vermelhas verificada nos ensaios de campo e de laboratório

Os resultados obtidos em campo e em laboratório foram muito consistentes. A cor vermelha (648nm) esteve sempre associada aos maiores níveis de capturas, com excepção da série de ensaios de laboratório realizada de tarde (16:00-18:00). Obtiveram-se diferenças significativas entre a cor vermelha (648nm) e a cor amarela (558nm) nos dois ensaios de campo e nos ensaios de laboratório realizados de manhã. Apenas no ensaio de campo de Julho de 2008 não se obtiveram diferenças significativas entre a cor vermelha (648nm) e a cor verde (514nm). As diferenças entre a proporção de machos capturados nas armadilhas verdes (514nm) e amarelas (558nm) nunca foram estatisticamente significativas. As armadilhas brancas estiveram, normalmente, associadas a níveis intermédios de capturas, entre as armadilhas vermelhas e as armadilhas verdes e amarelas. No ensaio da forma também se verificaram maiores níveis de capturas nas armadilhas vermelhas em relação às armadilhas amarelas (significativas no segundo ano de amostragem, em que se verificaram maiores densidades de machos). A preferência dos machos pelas armadilhas vermelhas e brancas nos vários tipos de ensaios é consistente com a resposta obtida por Ortu & Delrio (1982) e Antunes (2005).

A maior percentagem de reflectância das armadilhas amarelas em relação às armadilhas vermelhas (ver Cap.III, 3.1), demonstra que a preferência dos machos de *P. citri* não se baseia na intensidade, mas sim no comprimento de onda, um requisito para a verdadeira visão cromática (não exclui, contudo, a hipótese do comportamento associado a um comprimento de onda específico).

Poder-se-ia pensar que a sensibilidade das cochonilhas-algodão dos citrinos aos comprimentos de onda mais elevados (cor-de-laranja, vermelho) estaria associada à cor do fruto do hospedeiro vegetal principal. No entanto, tendo presente o ciclo biológico desta espécie (ver Cap. II, 1.4.), o período de actividade dos machos tem início em Junho-Julho, altura em que os frutos estão numa fase muito precoce de maturação, ou seja, ainda estão verdes. A preferência pelo vermelho poderá, por exemplo, ter origem num hospedeiro primitivo, como foi verificado para as moscas da fruta *Bactrocera cacuminata* (Herring) e *Bactrocera tryoni* (Froggatt) (Diptera: Tephritidae) que, apesar de constituírem pragas

oligófagas e polífagas, respectivamente, continuam a responder às “cores” dos seus hospedeiros originais selvagens, amarelo/verde e azul, respectivamente (Drew *et al.* 2003). Contudo, como *P. citri* é uma espécie polífaga, é difícil determinar a evolução da sua dieta. Outra hipótese para o seu comportamento é a sensibilidade à banda do vermelho estar associada à qualidade de luz crepuscular que, apesar de estar desviada para a zona do azul, relativamente à luz que incide sobre a superfície terrestre ao meio-dia, poderá também conter uma componente vermelha relativamente forte (ver Cap.II, 2.2.3.).

Considerando a discriminação dessa banda do espectro como um indicador de visão cromática, os machos terão que dispor de, pelo menos, dois pigmentos visuais com diferentes sensibilidades, uma vez que com apenas um pigmento é impossível qualquer tipo de visão cromática (ver Cap.II, 2.2.2.). No entanto, explorando a hipótese mais conservadora, a resposta à cor vermelha (648nm) poderá não ser uma sistema de visão cromática verdadeira, mas um comportamento associado a um comprimento de onda específico, ou seja, os comprimentos de onda emitidos pelas placas vermelhas poderão compreender os comprimentos de onda correspondentes aos picos de sensibilidade dos pigmentos visuais dos machos de *P. citri*. No entanto, a atractividade da cor-de-laranja (600-630nm) em relação às cores amarela e verde, no estudo desenvolvido por Ortu & Delrio (1982), sugere que os machos também respondam a comprimentos de onda intermédios, o que não acontece em comportamentos associados a comprimentos de onda específicos. A resposta às armadilhas brancas, que, por definição, reflectem todos os comprimentos de onda incidentes, demonstra que são sensíveis a combinações de comprimentos de onda, o que também não acontece nesse tipo de comportamento.

Os insectos dicromáticos dispõem de pigmentos visuais com picos de sensibilidade nos intervalos 320-400nm (UV) e 500-560nm (verde) ou nos intervalos 420-470nm (azul) e 500-560nm (verde), e os tricromáticos dispõem, normalmente, de pigmentos visuais com sensibilidade máxima nos intervalos 320-400nm (UV), 420-470nm (azul) e 500-560nm (verde) (Cap.II, 2.2.3.). Em nenhum destes sistemas é característico a existência de um pigmento visual com máximo de sensibilidade no intervalo 630-700nm (vermelho). No entanto, segundo Chittka & Waser (1997) e Döring & Chittka (2007) a possível detecção dos comprimentos de onda associados à cor vermelha não implica a existência de um receptor vermelho. De facto, nem nós, humanos, temos um receptor especificamente sensível aos comprimentos de onda vermelhos, embora o vermelho constitua uma das três cores primárias do nosso sistema visual. O que acontece com insectos tricromáticos sem receptores vermelhos (e.g., afídeos) é que terão dificuldade em distinguir vermelho da cor-de-laranja ou a amarelo do verde (Cap.II, 2.2.3.). Esta hipótese parece conseguir explicar o padrão de resposta obtido

relativamente a *P. citri*. De facto, a preferência pela cor vermelha foi substituída pela preferência pela cor-de-laranja no ensaio de Ortu & Delrio (1982) em relação às restantes três cores testadas – branco, amarelo, verde. Em todos os ensaios referidos na revisão bibliográfica, bem como nos ensaios desenvolvidos no âmbito do presente trabalho em condições de campo e laboratório, as cores amarela e verde surgem sempre associadas aos menores níveis de capturas, sem diferenças significativas entre si. Assim, a distinção de estímulos verdes e vermelhos poderá basear-se nas diferenças na proporção de luz reflectida pelas superfícies, para determinado comprimento de onda, e não na cor *per se*, ou seja, nos comprimentos de onda máximos reflectidos pelas superfícies. No entanto, a ausência de olhos compostos, as maiores e mais complexas estruturas visuais presentes nos insectos adultos, impõem algumas reservas em relação a esta hipótese.

Outra hipótese para um sistema de visão cromática, mais rudimentar que o tricromático, é a de estarmos perante um sistema idêntico ao defendido por Pichaud *et al.* (1999) como sistema de visão cromática primitivo, constituído por dois pigmentos, sensíveis aos UV e aos médios-longos comprimentos de onda. Dependendo da forma das curvas de sensibilidade dos dois pigmentos, seria possível, com este sistema, produzir o tipo de respostas observadas nos diversos estudos.

Como a cor branca representa quase total reflexão de todos os comprimentos de onda por uma superfície, faz sentido que apresente efeito atractivo para os machos, que respondem à radiação vermelha, contida na luz reflectida pelas armadilhas brancas.

1.2. Contraste no intervalo da radiação visível (400-700nm)

Segundo a teoria do contraste (ver Cap.II, 2.2.4.) são as diferenças de estímulos, nomeadamente, as diferenças espectrais, as diferenças de intensidade, de padrão e de movimento, que permitem ao insecto reconhecer objectos sob diversas condições luminosas. Enquanto que nos ensaios de laboratório, a única possível fonte de contraste, embora não evidente, é a diferença da composição espectral da luz reflectida pelas armadilhas que foram secções contíguas, nos ensaios de campo, a distinção das armadilhas pelos machos poderá ter sido também influenciada por diferenças de padrão e de movimento entre as placas rígidas e a folhagem das árvores.

Do ponto de vista das diferenças espectrais, o contraste entre as placas (225cm²) utilizadas como armadilhas nos ensaios de campo e o verde da folhagem (550nm, ver Cap.II, 2.2.3) é muito diferente. O pico de reflexão das placas verdes (514nm) no intervalo azul-verde (500-520nm) e o das amarelas (558nm) no intervalo verde-amarelo (550-570nm), evidenciam o baixo contraste com o verde da folhagem, sendo o maior contraste estabelecido com as placas

vermelhas (648nm). De facto, os resultados obtidos nos ensaios de campo realizados no âmbito do presente trabalho e nos trabalhos referidos na revisão bibliográfica (ver Cap.II, 2.5.) reflectem essas distâncias cromáticas. No entanto, também nos ensaios de laboratório (20 ensaios com a população de Tavira e 40 ensaios com a população de Silves), em que não existe este nível de contraste com o verde, se obteve exactamente o mesmo padrão de resposta. Estes resultados sugerem que os machos poderão ter capacidade de responder à reflectância absoluta dos objectos. Contudo, em condições de campo, o contraste das placas coloridas com o verde da folhagem poderá aumentar a sua aparência, tornando-as visíveis para os machos a partir de distâncias superiores em relação a placas sem o contraste verde. Esta hipótese foi verificada por Giurfa *et al.* (1996) em relação às abelhas.

A resposta à cor nos ensaios de campo, reiterada em condições de laboratório sob o sistema de iluminação descrito no capítulo III (3.1.2.), com filtro UV, sugere que se baseia exclusivamente na sensibilidade de comprimentos de onda na banda do visível. No entanto, não permite excluir a hipótese da influência dos UV na orientação dos machos em voo.

1.3. Hipótese da existência de um ritmo circadiano endógeno

Nos ensaios de laboratório com os machos criados em câmara climatizada com fotoperíodo 00L:24E, a preferência pela cor vermelha nos ensaios da manhã e pela cor branca nos ensaios da tarde sugere a existência de um ritmo circadiano endógeno. Estes resultados demonstram que, mesmo não estando expostos a um ciclo de luz, conseguem diferenciar o período da manhã do período da tarde. Estes resultados levantam a questão dos machos poderem responder a diferentes comprimentos de onda durante o período de voo. O que faz sentido como comportamento adaptativo uma vez que a quantidade (intensidade) e qualidade (composição espectral) da luz solar varia grandemente durante as quatro horas de actividade de voo dos machos (ver Cap.II, 2.2.3.).

1.4. Capacidade de voo dos machos adultos de *P. citri* testados em laboratório

Na análise dos resultados obtidos nas três séries de ensaios de laboratório, verificou-se maior actividade de voo dos machos pelas duas primeiras gerações da população oriunda de Tavira, relativamente aos machos de Silves, criados há 24-28 gerações em câmara climatizada, sem renovação de criações, no interior de caixas de plástico. Estes resultados sugerem que a criação em estufa favoreceu os machos com menor capacidade de voo.

Uma vez que a procura de parceiros de acasalamento constitui um recurso essencial para garantir o sucesso das gerações futuras, será de esperar que a selecção natural (cujo objectivo se baseia, através da competição intraespecífica, na maximização da razão entre o número de zigotos e o número de machos) favoreça os mecanismos de procura mais eficientes de modo a

maximizar a sua taxa de fertilização durante o período de vida reprodutiva (Parker 1978, Bell 1990). Ou seja, em condições naturais, os machos de *P. citri* com maior capacidade de voo são os mais eficazes na localização de fêmeas. O sucesso desses machos, que terão garantida a transmissão dos seus genes à sua descendência, compromete o sucesso de outros, menos eficientes, que passarão a ter menos fêmeas disponíveis. Nas condições de criação em câmara climatizada, no entanto, esta pressão de selecção é alterada, uma vez que os machos não necessitam de voar para a acasalar, o que propicia a reprodução dos indivíduos menos aptos para o voo.

2. Influência da forma da armadilha sexual na atracção dos machos adultos de *Planococcus citri* (Risso)

Os ensaios da forma não foram consistentes. Se nos basearmos nos resultados obtidos nos ensaios da cor, que indicam uma fraca resposta em relação à cor amarela, faz sentido que os machos, nos ensaios da forma com a cor amarela, não consigam discriminar a forma. No entanto, com a cor vermelha, a ausência de diferenças nas respostas dos machos às formas, sugere que a silhueta circular não estimule estes machos.

2.1. Efeito da posição das placas no dispositivo no ensaio da cor e da forma

Detectou-se relação entre a posição ocupada por cada uma das armadilhas cromotrópicas no dispositivo e os níveis de capturas obtidos, quer no ensaio da cor quer no ensaio da forma, estando as maiores proporções associadas à posição esquerda. Confrontando os resultados obtidos com os dados agrometeorológicos, verificou-se que, nos dois períodos de amostragem, os ventos dominantes provinham, de facto, de Nordeste-Este (Anexo 27-28).

No entanto, enquanto que no ensaio da forma, a posição das placas foi determinante para a proporção de machos capturados, independentemente da forma da placa, no ensaio da cor não se obtiveram os mesmos resultados. De facto, não ocorreu uma relação linear entre o número de vezes que cada modalidade (verde, vermelho, branco, amarelo) ocupou cada posição (esquerda superior, esquerda inferior, direita superior, direita inferior), com os valores médios de capturas obtidos por essas modalidades. A cor verde, por exemplo, associada aos menores níveis de capturas em todos os ensaios, no total das 10 repetições instaladas em 2007, foi a cor que ocupou mais vezes a posição mais favorecida pelo vento. E a cor vermelha, em 2008, ocupou as posições extremas (a mais e a menos favorecida pelo vento) o mesmo número de vezes. A influência dominante da posição no ensaio da forma e a influência dominante da cor no ensaio da cor fortalecem a teoria de que os machos têm, de facto, sensibilidade cromática e que os resultados obtidos em campo resultaram de uma escolha e não de um factor físico.

3. Morfologia interna dos órgãos de visão dos machos adultos de *Planococcus citri* (Risso)

Os três pares de olhos simples dos machos adultos de *P. citri* apresentam analogias na sua constituição celular. Confrontando as imagens obtidas com a Microscopia Electrónica de Transmissão (MET) com os esquemas tipo dos cortes longitudinais dos ocelos laterais, dorsais e olhos compostos (Fig.3), verifica-se grande semelhança entre os três pares de olhos estudados e os ocelos dorsais.

Com a análise da morfologia interna dos olhos simples laterais de *P.citri*, elimina-se a hipótese de constituírem olhos atípicos e rudimentares, como os que se conhecem localizados lateralmente na cabeça de determinados insectos adultos (Carvalho 1986). Surpreendentemente, apesar da menor dimensão, da homogeneidade da superfície da lente, e da ausência da estrutura “tipo taça” em que os outros dois pares estão inseridos, apresentam uma morfologia interna semelhante à dos olhos dorsais e ventrais, com maiores afinidades com o par dorsal. A característica que distingue os pares dorsal e lateral do par ventral é a diferente configuração das células fotoreceptoras (rabdomas), captada no corte longitudinal desses olhos.

Nos ocelos dos insectos, os rabdómeros ocupam normalmente uma grande parte da periferia da célula visual e no caso de *Rhodnius* (Hemiptera, Triatominae) ocupam-na na totalidade, formando uma malha hexagonal, visível no corte transversal, semelhante ao do *stemmata* atípico do escaravelho tigre *Cicindela* (Coleoptera, Cicindelidae) (ver Fig.38) (Chapman 1996a). Também nos machos de Strepsiptera *Xenos vesparium* (Rossi) (Pix *et al.* 2000) e *Xenos peckii* (Kirby) (Bushbeck *et al.* 2003) foi observada esta configuração.

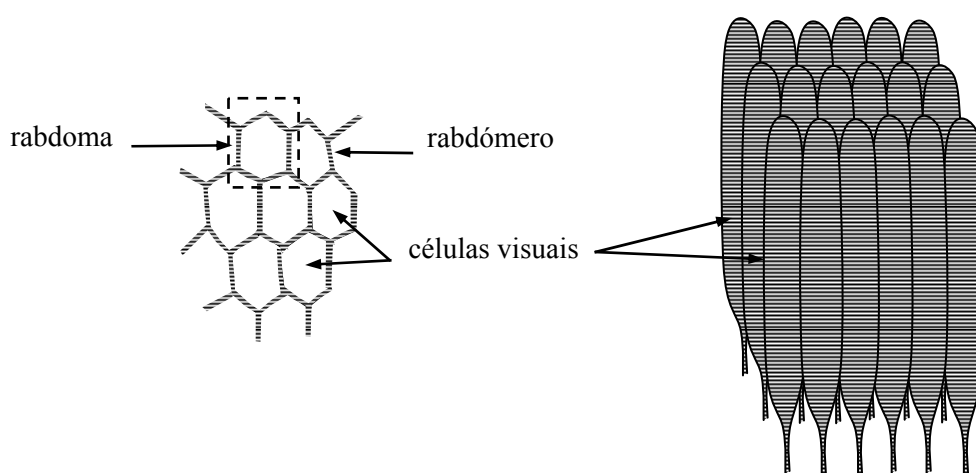


Fig.38 – Rabdómeros dos *stemmata* atípicos das larvas de *Cicindela*, distribuídos por toda a periferia das células visuais: esquema da secção transversal dos rabdomas (à esquerda), representação tridimensional da organização das células visuais (adaptado de Chapman 1996a).

A configuração desses rabdomas (Fig.38) sugere que, nos olhos simples dorsais e laterais de *P. citri*, os rabdómeros das células visuais possam também estar distribuídos pela totalidade da membrana celular. Considerando que é nos rabdomas que os raios de luz são transmitidos, filtrados e, finalmente, absorvidos pelos pigmentos visuais, essa conspicuidade poderá ser indicadora de elevada capacidade de captação de fótons, uma vez que corresponde à maximização da área ocupada pelos rabdómeros.

O facto da configuração dos rabdomas captada pelo corte longitudinal dos pares dorsal e lateral se assemelhar às configurações convencionais de rabdomas obtidas por cortes transversais sugere que a sua orientação é atípica, estendendo-se paralelamente à lente, em vez de se estenderem em profundidade, perpendicularmente à lente. De facto, a configuração dos rabdomas captada no corte longitudinal dos pares dorsal e lateral de *P. citri* é semelhante à obtida por Duelli (1978) no corte transversal e oblíquo dos rabdomas dos pares dorsal e ventral dos machos adultos das cochonilhas do género *Eriococcus* sp. E a configuração dos rabdomas captada no corte longitudinal do par ventral de *P. citri* coincide com a configuração obtida por Duelli (1978) no corte longitudinal dos pares dorsal e ventral. Estas evidências sugerem que os rabdomas presentes nos três pares de olhos simples dos machos adultos de *P. citri* sejam idênticos, variando apenas a sua orientação. Assim, cada rabdoma será constituído por um conjunto de rabdómeros cilíndricos contíguos em torno do citoplasma da célula visual. Segundo Duelli (1978), corresponderão funcionalmente aos rabdómeros presentes nos insectos convencionais.

Na Fig.39 é apresentada a interpretação tridimensional dos rabdomas visualizados no corte longitudinal dos olhos simples dorsais e laterais dos machos adultos de *P. citri*. No entanto, apesar de Duelli (1978), defender que, no lugar dos *microvilli* existem configurações membranosas semelhantes aos vertebrados, não se dispõem de dados suficientes para chegar a uma mesma conclusão em relação aos machos de *P. citri*, tendo-se, por isso, adoptado, neste trabalho, a designação convencional.

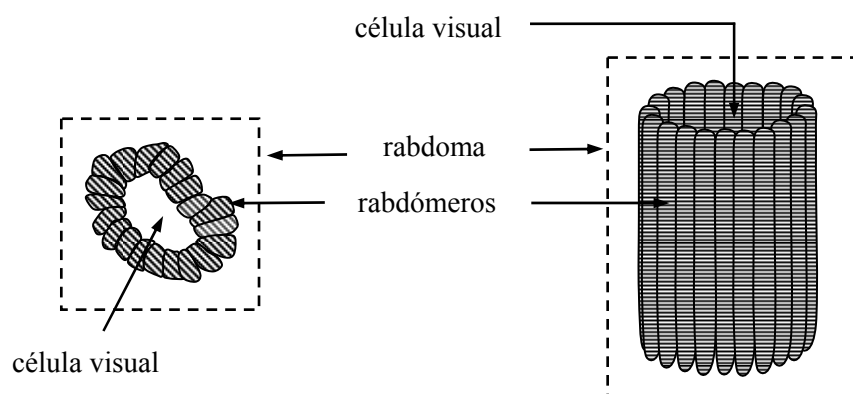


Fig.39 – Representação esquemática da dimensão relativa, forma e arranjo dos rabdómeros formando o rabdoma, dos olhos simples dorsais e laterais dos machos adultos de *Planococcus citri* (Risso).

Os rabdomas dos três pares de olhos simples dos machos adultos de *P. citri* apresentam, assim, uma configuração “fechada”, consistente com a ocorrência de algum grau de sobreposição de informação visual entre células vizinhas, o que permite aumentar a intensidade luminosa (ver Cap.II, 2.3.). Segundo Carlson & Chi (1979), a visão cromática está associada a rabdomas “abertos”, o que fortalece a hipótese da sensibilidade dos machos adultos de *P. citri* aos comprimentos de onda associados à cor vermelha, serem um comportamento associado a um comprimento de onda específico e não um indicador de verdadeira visão cromática.

Na imagem da secção da cabeça apanhando os três tipos de olhos simples, obtida por microscopia óptica, verificou-se que as camadas de células fotoreceptoras e de células pigmentares são mais espessas no olho ventral do que no olho dorsal, o que sugere uma maior captação de fótons e um maior poder de resolução por estes olhos.

Nas imagens de MET verificou-se que, no próprio olho (dorsal, ventral e lateral), a espessura da camada de células fotoreceptoras não é uniforme, sendo mais espessa na área central, o que poderá ser indicador da região onde incide mais luz.

Nos três pares de olhos simples dos machos adultos de *P. citri*, a camada de células fotoreceptoras apareceram rodeadas por células pigmentares. Apesar de nas descrições e esquemas dos olhos típicos dos insectos apenas aparecerem as células pigmentares que envolvem as células corneanas, as células pigmentares podem ocorrer, nos ocelos, entre grupos de células visuais ou a rodearem perifericamente o olho (Chapman 1972, 1996a). Esta distribuição foi encontrada nos “olhos compostos” dos machos de Strepsiptera (Bushbeck *et al.* 2003), nos olhos simples dos machos de *Eriococcus* sp. (Duelli 1978) e nos ocelos dorsais de *Alphrophora* (Hemiptera) (Chapman 1972). Segundo Carlson & Chi (1979), poderão interferir na absorção e/ou dispersão da luz e, em alguns casos, podem movimentar-se em resposta à luz.

Os três pares de olhos simples também se diferenciam pela dimensão das lentes. A principal função da lente é transmitir e refractar a luz incidente para os rabdômeros da célula fotoreceptora (na ausência de corpo cónico). Elevada resolução requiere uma lente de grande dimensão, que pode ser alcançada por uma elevada curvatura, exterior e interior ao tegumento (Carlson & Chi 1979, Chapman 1998a). Assim, a maior lente, do par ventral, associada à elevada curvatura (comum aos três pares de olhos), poderá estar relacionada a uma maior sensibilidade à luz, ou seja, à maior captação de fótons, e mesmo, a um maior poder de resolução. Por oposição, com uma menor dimensão das lentes (par lateral), ocorre difracção da luz, que resulta na perda de fótons (Carlson & Chi 1979, Chapman 1998a).

A existência de diferenças entre o par ventral e os pares dorsal e lateral faz sentido se considerarmos a hipótese defendida por Duelli (1978, 1985), em que o par ventral seria utilizado na localização de locais de aterragem, na vegetação, de onde é emitida a feromona sexual pelas fêmeas receptivas.

Com base na teoria defendida por Land & Nilsson (2002) em relação aos ocelos dorsais, a imagem produzida por estes olhos poderá ser desfocada, com o objectivo de aumentar a distinção entre padrões espaciais repetitivos como folhas e ramos, muito frequentes no contexto do seu habitat (pomares) e outros objectos, provavelmente, fêmeas e frutos. Os ocelos dos machos de *P. citri* poderão estar envolvidos na estabilização horizontal do voo, à semelhança dos ocelos dos gafanhotos, libelinhas e sirfídeos (Wilson 1978, Stange 1981) e poderão ser sensíveis às mudanças do plano de vibração da luz polarizada (Carvalho 1986).

As semelhanças dos três pares de olhos simples com os ocelos dorsais que aparecem normalmente associados aos olhos compostos nos insectos adultos voadores, reforça a hipótese da resposta aos comprimentos de onda vermelhos poder ser um comportamento associado a um comprimento de onda específico, como foi referido por Carlson & Chi (1979).

4. Considerações finais

Existem métodos expeditos para determinação dos fotoreceptores e dos respectivos picos de sensibilidade espectrais presentes nas estruturas visuais dos insectos: electrofisiologia intracelular (“intracellular recordings”) (Briscoe & Chittka 2001, Arikawa 2003, Kelber 2006, Döring & Chittka 2007, Skorupski *et al.* 2007) electrofisiologia extracelular (“extracellular recordings”) (Döring & Chittka 2007, Szentesi *et al.* 2002), electroretinograma (Briscoe & Chittka 2001, Kelber 2006) e microespectrofotometria (Briscoe & Chittka 2001, Kelber 2006). Contudo, de acordo com Prokopy & Owens (1983), a informação sobre as sensibilidades dos fotoreceptores nos insectos herbívoros continua a ser muito limitada. Uma razão para a escassez de informação fisiológica sobre cochonilhas, à semelhança da apresentada por Döring & Chittka (2007) para os afídeos, é a dificuldade de aplicação das técnicas apropriadas devido à dimensão e consistência mole destes insectos, que torna a inserção de microelctrodos em células individuais dos seus olhos excessivamente difícil. No entanto, apesar do conhecimento das sensibilidades espectrais dos fotoreceptores poder simplificar o estudo da visão cromática, essa informação não é suficiente para definir o sistema visual. É sempre necessária a realização de testes comportamentais para perceber de que forma a informação visual é integrada no cérebro.

As analogias encontradas entre os olhos simples dos machos de *P. citri* (Hemiptera: Pseudococcidae) com os olhos simples de *Eriococcus* sp. (Hemiptera: Eriococcidae) e com os

omatídeos atípicos dos machos de *X. vespariolum* e *X. peckii* (Strepsiptera: Stylopidae), sugerem a existência de um mecanismo visual adaptado ao curto período de vida livre destes machos, confinado à localização das fêmeas ápteras e crípticas e ao acasalamento (JC Franco com pess 2007). Duelli (1978) defende um sistema visual com uma boa sensibilidade à luz e com um bom poder de resolução. Buschbeck *et al.* (1999, 2003) e Pix *et al.* (2000) defendem que uma das funções visuais dos olhos dos machos de Strepsiptera é a de monitorização do voo.

A combinação da função de voo dos machos, com a orientação do corpo mantida durante o voo com os três pares de olhos ajustados com a linha do horizonte, com os dados da morfologia interna dos olhos, sugere que utilizem outro(s) tipo(s) de informação visual para além dos comprimentos de onda da banda visível do espectro, nomeadamente, a banda do ultravioleta e outra propriedade física da luz, a polarização.

4.1. Contraste no intervalo da radiação ultravioleta (320-400nm)

Apesar da resposta dos machos de *P. citri* à cor parecer basear-se apenas na sensibilidade aos comprimentos de onda da banda do visível, a orientação dos machos em voo poderá basear-se num mecanismo de contraste envolvendo receptores ultravioleta (UV), nomeadamente na diferença de composição espectral entre o céu (com maior porção de UV) e a luz reflectida pela vegetação (com menor porção de UV e reflexão predominante dos comprimentos de onda de energia média, verde-amarelo). Seria importante explorar esta hipótese, uma vez que se se concluísse sobre a sensibilidade dos machos de *P. citri* aos UV, poder-se-ia desenvolver novas estratégias de protecção de culturas, nomeadamente, adoptar a aplicação de materiais fotoselectivos para os UV (polietileno, PVC, policarbonato) na cobertura de estufas, à semelhança do que já é feito para o controlo de insectos transmissores de vírus (e.g., mosquinha-branca, afídeos, tripses) (ver Cap.I).

4.2. Polarização

Uma das propriedades físicas da luz é a polarização, que se baseia na localização dos campos eléctricos dos fotões num plano particular. Os ambientes naturais são abundantes em luz polarizada, proveniente da difusão da luz solar pela atmosfera e hidrosfera, e/ou da reflexão da luz por superfícies brilhantes, não metálicas, como água, solo e vegetação. O grau de polarização e o plano de máxima polarização das diferentes partes do céu variam com a posição do sol. Mesmo quando o céu está encoberto, o padrão de polarização persiste, permitindo a determinação da posição do sol através da composição da luz polarizada de uma “porção de céu azul”. Certos insectos utilizam esta informação na navegação (e.g., *Apis*,

Cataglyphis). Outros (e.g., Odonata e alguns Diptera) utilizam-na na manutenção de uma orientação constante. (Carlson & Chi 1972, Wehner 2001, Land & Nilsson 2002, Cronin *et al.* 2003, Wehner & Labhart 2006). Assim, a polarização poderá também ser utilizada pelos machos de *P. citri* na navegação, o que se coaduna com a função atribuída a alguns ocelos dorsais (Carvalho 1986). De facto, o grau máximo de polarização ocorre no início e no final do dia (Wehner 2001), que inclui o período de actividade de voo dos machos.

V. CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram, com grande consistência, a existência de sensibilidade dos machos de *P. citri* aos comprimentos de onda vermelhos (630-700nm), independente da intensidade. Suportam, por isso, a existência de um sistema de visão cromática.

Três hipóteses foram apresentadas: comportamento dependente de comprimento de onda específico (hipótese mais conservadora), sistema primitivo constituído por dois pigmentos, sensíveis aos UV e aos médios-longos comprimentos de onda, e sistema de visão tricromática sem um pigmento específico para os comprimentos de onda vermelhos.

A concordância entre os resultados de preferência cromática obtidos em campo e em laboratório sugere que os machos poderão ter capacidade de responder à reflectância absoluta dos objectos.

A preferência pela cor vermelha nos ensaios da manhã e pela cor branca nos ensaios da tarde, observados nos ensaios realizados em condições controladas de laboratório, com a população mantida em câmara climatizada com fotoperíodo 00L:24E, sugere a existência de um ritmo circadiano endógeno.

A criação dos machos, durante várias gerações, em caixas mantidas em câmara climatizada, às escuras, pode conduzir a um aumento da frequência de machos com menor aptidão para o voo, o que, em termos práticos, adverte para a importância da renovação frequente das criações, com base em indivíduos colhidos no campo.

Aparentemente, os machos de *P. citri* não conseguem discriminar entre formas circulares e quadradas.

Os três pares de olhos simples dos machos adultos de *P. citri* apresentam analogias na sua constituição celular, existindo grande afinidade com os ocelos dorsais, presentes na generalidade dos insectos adultos voadores. Assim, poderão produzir uma imagem desfocada, estar envolvidos na estabilização horizontal de voo e ser sensíveis às mudanças do plano de vibração da luz polarizada. A configuração “fechada” das células fotoreceptoras (rabdomas) e a distribuição dos rabdómeros pela totalidade da periferia das células visuais são indicadoras de uma elevada capacidade de captação de fotões.

Dos três pares de olhos simples, o par ventral é o que reúne as adaptações associadas à maior capacidade de captação de fotões e a um maior poder de resolução, nomeadamente, a maior lente, as protuberâncias na superfície da córnea (característica comum ao par dorsal), e as camadas mais espessas de células fotoreceptoras e de células pigmentares convergentes.

Em termos de aplicação prática, a utilização da cor vermelha poderá aumentar a eficiência de dispositivos (placas de polipropileno) activados com feromona sexual de síntese, tendo em

vista quer a optimização dos actuais sistemas de monitorização, quer o desenvolvimento de novas tácticas de protecção biotécnica, como a “atração e morte” ou “captura em massa”.

V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Affi (1968) Morphology and taxonomy of the adult males of the families Pseudococcidae and Eriococcidae (Homoptera: Coccoidea). Bull Brit Mus (Nat Hist) Entomol Suppl 13, London.
- Amaro P (2003) A Protecção Integrada. ISA Press, Lisboa.
- Antignus Y, Lapidot M, Cohen S (2001a) Interference with ultraviolet vision of insects to impede insect pests and insect-borne plant viroses. In: KS Harris (ed) Virus-Insect-Plant Interactions. Academic Press, USA, pp. 331-351.
- Antignus Y, Mor N, Ben-Joseph R, Lapidot M, Cohen S (1996) UV-absorbing plastic flight behaviour of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) and *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) J Econ Entomol 92:557-562.
- Antignus Y, Nestel D, Cohen S, Lapidot M (2001b) Ultraviolet-deficient greenhouse environment affects whiteflies attraction and flight behavior. Environ Entomol 30:394-399.
- Antunes RSP (2005) Bases para o desenvolvimento de uma tática biotécnica de “atração e morte” relativamente à cochonilha-algodão dos citrinos: influência da cor na actividade de voo dos machos e ritmo circadiano. Rel Trab Fim Curso Eng Agron, ISA/UTL, Lisboa.
- Arikawa K (2003) Spectral organization of the eye of a butterfly, *Papilio*. J Comp Physiol A 189:791-800.
- Ascensão JMV (2002) A utilização de feromonas em estratégias de protecção integrada contra a cochonilha-algodão dos citrinos. Rel Trab Fim Curso Eng Agron, ISA/UTL, Lisboa.
- Bell WJ (1990) Searching behaviour patterns in insects. Annu Rev Entomol 35: 447-467.
- Bell WJ, Cardé RT (eds) (1984) Chemical ecology of insects. Chapman & Hall, London.
- Bell WJ, Cardé RT (eds) (1995) Chemical ecology of insects 2. Chapman & Hall, New York.
- Ben-Dov Y (1994) A systematic catalog of the mealybugs of the world (Insecta: Homoptera: Coccoidea: Pseudococcidae and Putoidea), with data on geographical distribution, host plants, biology and economic importance. Intercept, Andover.
- Berry RP, Stange G, Warrant EJ (2007a) Form vision in the insect dorsal ocelli: an anatomical and optical analysis of the locust ocelli. Vis Res 47:1382-1493.
- Berry RP, Stange G, Warrant EJ (2007b) Form vision in the insect dorsal ocelli: an anatomical and optical analysis of the dragonfly median ocellus. Vis Res 47:1394-1409.
- Bierl-Leonhardt BA, Moreno CS, Schwarz M, Fargerlund J, Plimmer JR (1981) Isolation, identification and synthesis of the sex pheromone of the citrus mealybug, *Planococcus citri* (Risso). Tetrah Lett 22: 389-392.
- Blumberg D (1997) Parasitoid encapsulation as a defence mechanism in the Coccoidea (Homoptera) and its importance in biological control. Biol Control 8: 225-236.
- Blumberg D, Gross S, Steinberg S, Carvalho CJ, Franco JC & Mendel Z (1997). Biological control of the citrus mealybug (Homoptera: Pseudococcidae) in outdoor crops – still a challenge. 11th Int Entomophagous Insects Workshop. Madison, Winsconsin, 12-16Jul 1997 (Abstract).

- Brévault T, Quilici S (2007) Visual response of the tomato fruit fly, *Neoceratitis cyanescens*, to colored fruit models. *Entomol Exp Appl* 125:45-54.
- Briscoe AD, Chittka L (2001) The evolution of color vision in insects. *Annu Rev Entomol* 46: 471-510.
- Britannica Encyclopedia (2008) Colour vision – Young-Helmholtz Theory. URL: <http://www.britannica.com/> (acedido em 3 de Maio de 2008)
- Byrne A, Hilbert DR (eds) (1997) Readings on color. The science of colour. Vol.2. MIT Press, Cambridge.
- Buschbeck EK, Ehmer B, Hoy RR (1999) Chunk versus point sampling: visual imaging in a small insect. *Science* 286:1178-1180.
- Buschbeck EK, Ehmer B, Hoy RR (2003) The unusual visual system of the Strepsiptera: external eye and neuropils. *J Comp Physiol A* 189:617-630.
- Carlsen PHJ, Odden W (1984) Synthesis of the female sex pheromone of the Citrus mealybug, *Planococcus citri* (Risso). *Acta Chem Scand Sect B*, 38: 501-504.
- Carlson SD, Chi C (1979) The functional morphology of the insect photoreceptor. *Ann Rev Entomol* 24: 379-416.
- Carvalho JP (1986) Introdução à Entomologia Agrícola. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa.
- Carvalho JP (1988) Programa de entomologia para a citricultura do Algarve. *Prog Invest Concurs Invest Coord. INIA/EAN*, Oeiras, 89-191.
- Carvalho JP, Franco JC, Aguiar F, Soares AO (1996) Insects pests of citrus in Portugal. *Proc Int Soc Citriculture*, 1: 613-618.
- Chapman RF (1972) The eyes and vision. In: *The insects: Structure and Function*. The English University Press, London, pp. 543-572.
- Chapman RF (1998a) Vision. In: *The insects: Structure and Function*. Cambridge University Press, New York, pp. 588-609.
- Chapman RF (1998b) Visual signals: color and light production. In: *The insects: Structure and Function*. Cambridge University Press, New York, pp. 657-679.
- Chiao CC, Cronin TW, Marshall NJ (2000) Eye design and color signalling in a stomatopod crustacean *Gonodactylus smithii*. *Brain Behav Evol* 65:107-122.
- Chittka L, Kevan PG (2005) Flower colour as advertisement. In: Dafni A, Kevan PG, Husband BC (eds) *Practical pollination biology*. Enviroquest Ltd, Cambridge, pp. 157-196.
- Chittka L, Shmida A, Troje N, Menzel R (1994) Ultraviolet as a component of flower reflections, and the color perception of hymenoptera. *VisRes*, 34(11):1489-1508.
- Chittka L, Waser NM (1997) Why red flowers are not invisible for bees. *Israelian J Plant Sci* 45: 69-183.
- Cornwell PB (1955) The functions of the ocelli of *Caliphora* (Diptera) and *Locusta* (Orthoptera). *J Exp Biol* 32: 217-237.

- CPTEC/INPE (2008) Centro de Tempo e Estudos Climáticos, Ministério da Ciência e da Tecnologia, Brasil. URL: <http://satelite.cptec.inpe.br/UV/R-UV.html#espectro> (acedido em 3 de Maio de 2008).
- Cronin TW, Shashar N, Caldwell RL, Marshall J, Cheroske AG, Chiou TH (2003) Polarization vision and its role on biological signalling. *Integr Com Biol* 43:549-558.
- Cytrynowicz M, Morgante JS, De Souza HML (1982) Visual responses of South American fruit flies, *Anastrepha fraterculus*, and Mediterranean fruit flies, *Ceratitis capitata*, to colored rectangles and spheres. *Environ Entomol* 11:1202-1210.
- Dafni A, Lehrer M, Kevan PG (1997) Spacial flower parameters and insect special vision. *Biol Rev* 72: 239-282.
- DeValois RL, DeValois KD (1997) Neural coding of color. In: Byrne A, Hilbert DR (eds) *Readings on Color* vol 2. MIT, Cambridge, pp. 93-140.
- Döring TF, Chittka L (2007) Visual ecology of aphids – a critical review on the role of colors in host finding. *Arthropod-Plant Interactions* 1:3-16.
- Doutt RL (1951) Biological control of mealybugs infesting commercial greenhouse gardenias. *J Econ Entomol* 44:37-40.
- Drew RAI, Prokopy RJ, Roming MC (2003) Attraction of fruit flies of the genus *Bactrocera* to colored mimics of host fruit. *Entomol Exp Appl* 107: 39-35.
- Duelli P (1978) An insect retina without microvilli in the male scale insect, *Eriococcus* sp. (Eriococcidae, Homoptera). *Cell Tiss Res* 187:417-427.
- Duelli P (1985) A new functional interpretation of the visual system of male scale insects (Coccida, Homoptera). *Experientia* 41: 1036.
- Dunkelblum E (1999) Scale Insects. In: Hardie & Minks (eds) *Pheromones of Non-Lepidopteran Insects*. CABI, Wallingford, pp. 251-276.
- Dunkelblum E, Ben-Dov Y, Goldschmidt Z, Wolk JL, Somekh L (1987) Synthesis and field bioassay of some analogs of sex pheromone of citrus mealybug, *Planococcus citri* (Risso). *J Chem Ecol* 13(4):863-871.
- Dunkelblum E, Sternlicht M, Bar-Zakkai I, Goldschmidt Z (1983) Capture of citrus mealybug (*Planococcus citri*) males with synthetic pheromone-baited traps. *Phytoparasitica* 11:2.
- Dunkelblum E, Zada A, Gross S, Fraistat P, Mendel Z (2002) Sex pheromone and analogs of the citrus mealybug, *Planococcus citri*: synthesis and biological activity. *IOBC/wprs Bull* 25(9).
- Fernandes IM (1981) Contribuição para o conhecimento da quermofauna do arquipélago dos Açores. *Ser Zool, Lisboa*, 10(1-2):47-50.
- Foster SP, Harris MO (1997) Behavioral manipulation methods for insect pest-management. *Annu Rev Entomol* 42:123-46.
- Franco JC (1994) Citrus phenology as a basis to study the population dynamics of the citrus complex in Portugal. In: Tribulato E, Gentile A, Regorgiato G (eds) *Proc Int Soc Citric, Acireale, 1992. MCS Congress, Catania*, pp. 929-930.
- Franco JC (1997) Contribuição para a protecção integrada em citrinos: caso das cochonilhas-algodão (Hemiptera, Pseudococcidae). Tese Doutor Eng Agron, ISA/UTL, Lisboa.

- Franco JC, Carvalho JP (1991) As cochonilhas-algodão dos citrinos (Homoptera: Pseudococcidae) em Portugal. 1º Congr Iber Ciênc Hort, Lisboa 1990. Acta Hort 6:75-81.
- Franco JC, Gross S, Carvalho CJ, Blumberg D, Mendel Z (2001a). The citrus mealybug in citrus groves in Israel, Portugal and California: fruit injury and biological control as related to seasonal activity. *Phytoparasitica* 29:86.
- Franco JC, Gross S, Silva EB, Suma P, Russo A, Mendel Z (2003) Is mass-trapping a feasible management tactic of the citrus mealybug in citrus orchards? *An Inst Sup Agronom*, 49:353-367.
- Franco JC, Ramos AP, Moreira I (eds) (2006) Infra-estruturas ecológicas e protecção biológica – caso dos citrinos. ISA Press, Lisboa.
- Franco JC, Russo A, Suma P, Neto E, Zada A, Mendel Z (2004a) Comparative biology of citrus mealybug and the vineyard mealybug (Hemiptera, Pseudococcidae). *Proc X Inter Symp Scale Insect Studies*, 232.
- Franco JC, Russo A, Suma P, Silva EB, Dunkelblum E & Mendel Z (2001b) Monitoring strategies for the citrus mealybug in citrus groves. *Boll Zool Agrar Bachic* 33(3):297-303.
- Franco JC, Silva, EB, Carvalho JP (2000) Cochonilhas-algodão (Hemiptera, Pseudococcidae) associadas aos em Portugal. ISA Press, Lisboa.
- Franco JC, Suma P, Silva EB, Blumberg D, Mendel Z (2004b) Management strategies of mealybug pests of citrus in Mediterranean countries. *Phytoparasitica* 32(5):507-522.
- Gärtner W (2000) Invertebrate visual pigments. In: Stavenga DG, De Grip WJ, Pugh EN (eds) *Handbook of biological physics*. Elsevier, New York, pp. 297-388.
- Gilbert C (1994) Form and function of stemmata in larvae of holometabolous insects. *Annu Rev Entomol* 39:323-49.
- Giurfa M, Vorobyev M, Kevan PG, Menzel R (1996) Detection of coloured stimuli by honeybees: minimum visual angles and receptor specific contrasts. *J Comp Physiol A* 178:699-709.
- Goldsmith TH (1991) The evolution of visual pigments and colour vision. In: Gouras P (ed) *The perception of colour*. MaxMillan, London, pp. 62-89.
- Goldsmith TH (1994) Ultraviolet receptors and color vision: Evolutionary implications and a dissonance of paradigms. *Vis Res*, 34(11):1479-1487.
- Gould F (1991) Arthropod behavior and the efficacy of plant protectants. *Annu Rev Entomol* 36:305-330.
- Gravitz N, Wilson C (1968) A sex pheromone from the citrus mealybug. *Entomol* 32:1458-1459.
- Gullan PJ, Cranston PS (1994) *The insects: an outline of Entomology*. Chapman & Hall, New York.
- Gullan P J, Kosztarab M (1997) Adaptations in scale insects. *Annu Rev Entomol* 42:23-50.
- Gullan PJ, Martin JH (2003) Sternorrhyncha (Jumping plant lice, whiteflies, aphids, and scale insects). In: Resh VH, Cardé RT (eds) *Encyclopedia of insects*. Academic Press, Amsterdam, pp. 1079-1089.
- Hardie RC (1986) The photoreceptor array of the dipteran retina. *Trends of Neuroscience* 9: 419-423.
- Hefetz A, Tauber O (1990) Male response to the synthetic sex pheromone of *Planococcus citri* (Risso) (Hom., Pseudococcidae) and its application for population monitoring. *J Appl Entomol* 109:502-506.

- Hodgson C, Foldi I (2006) A review of the Margarodidae *sensu* Morrison (Hemiptera:Coccoidea and some related taxa based on the morphology of adult males. Zootaxa 1263:1-250.
- Hodgson CJ, Henderson RC (2004) Coccidae (Insecta: Homoptera: Coccoidea): adult males, pupae and prepupae of indigenous species. Fauna of New Zealand 51.
- Horridge GA (1969) Unit studies on the retina of dragonflies. Z Vergl Physiol 62:1-37.
- Hu KG, William SS (1980) The roles of *Drosophila* ocelli and compound eyes in phototaxis. J Comp Physiol 135:85-95.
- Hunt DM, Wilkie SE, Bowmaker K, Poopalasundaram S (2001) Vision in the ultraviolet. Cell Mol Life Sci 58:1583-1598.
- Ichikawa T, Tateda H (1982) Distribution of color receptors in the larval eyes of four species of Lepidoptera. J Comp Physiol 149:317-324.
- Jacobs GH (1981) Comparative color vision. Academic, New York.
- Jacobs GH (1992) Ultraviolet vision in vertebrates. Am Zool 32:544-554.
- Katsoyannos BI (1989) Response to shape, size and color. In: Robinson AS, Hooper G (eds) World Crop Pests, Fruit Flies, Their Biology, Natural Enemies and Control. Elsevier, Amsterdam, Volume 3A, pp. 307-324
- Katsoyannos BI, Kouloussis NA (2001) Captures of the olive fruit fly *Bactrocera oleae* on spheres of different colours. Entomol Exp Appl 100:165-172.
- Katsoyannos P (1996) Integrated insect pest management for citrus in northern mediterranean countries. Benaki Phytopathol Ins, Athens.
- Kelber A (2006) Invertebrate colour vision. In: Eric W, Dan-Eric N (eds) Invertebrate vision. Cambridge University Press, New York, pp. 250-290.
- Kelber A, Vorobyev M, Osorio D (2003) Animal colour vision – behavioural tests and physiological concepts. Biol Rev 78:81-118.
- Kevan PG, Chittka L, Dyer AG (2001) Limits to the salience of ultraviolet: lessons from colour vision in bees and birds. J Environ Biol 204:2571-2580.
- Kirchner SM, Döring TF, Saucke H (2005) Evidence for trichromacy in the green peach aphid *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). J Insect Physiol 51:1266-1260.
- Kosztarab M (1996) Scale insects of Northeastern North America. Identification, Biology and distribution. Martinsville.
- Kühn A (1924) Zum Naschweiss des farbuntercheidungsvermögen der pigmentfarben. Naturwissenschaften 12:116. (Cited in Kevan *et al.* 2001)
- Land MF (1997) Visual acuity in insects. Annu Rev Entomol 42:147-177.
- Land MF (2003) Eyes and vision. In: Resh VH, Cardé RT (eds) Encyclopedia of insects. Academic Press, Amsterdam, pp. 393-406.
- Land MF, Nilsson DE (2002) Animal Eyes. Oxford University Press.

- Lehrer M (1997) Honeybee's use of special parameters for flower discrimination. *Isr J Plant Sci* 45:157-168.
- Lin JT (1993) Identification of photoreceptor locations in the compound eye of *Coccinella septempunctata* Linnaeus (Coleoptera, Coccinellidae). *J Ins Physiol* 39:555-62.
- Lubbock J (1888) On the senses, instincts and intelligence of animals with special reference to insects. Kegan Paul, London. (Cited in Kelber 2006)
- Lubbock Sir J (1881) Observations on ants, bees, and wasps. IX. Color of flowers as an attraction to bees: Experiments and considerations thereon. *J Linn Soc Lond (Zool)* 16:110-112. (Cited in Kevan *et al.* 2001)
- Mayer G (2006) Structure and development of onychophoran eyes: what is the ancestral visual organ in arthropods? *Arthropod Structure & Development* 35:231-245.
- Meinertzhagen IA, Menzel R, Kahle G (1983) The identification of spectral receptor types in the retina and lamina of the dragon fly *Sympetrum rubicundulum*. *J Comp Physiol A*, 151:295-310.
- Mendel Z, Gross S, Steinberg S, Cohen M, Blumberg D (1999) Trials for the control of the citrus mealybug in citrus orchards by augmentive release of two encyrtids parasitoids. *Entomol Bari* 33:251-266.
- Menzel R (1979) Spectral sensitivity and color vision in invertebrates. In: Autrum H (ed) *Handbook of Sensory Physiology*, vol VII\6A, Vision in Invertebrates. Springer, Berlin, pp. 503-580.
- Menzel R, Blakers M (1976) Colour receptors in the bee eye – morphology and spectral sensitivity. *J Comp Physiol* 108:11-33.
- Meyer JR (2006) Color vision. URL: <http://www.cals.ncsu.edu/course/ent425/tutorial/colorvision.html> (acedido em 24 de Junho de 2007)
- Millar JG, Daane KM, McElfresh JS, Moreira JA & Bentley WJ (2005) Chemistry and applications of mealybugs sex pheromone. In: Petroski RJ, Tellez MR & Behle RW (eds) *Semiochemicals in pest and weed control*. American Chemical Society, Washington DC, pp. 11-27.
- Miller DR, Kosztarab M (1979) Recent advances in the study of scale insects. *Ann Rev Entomol* 24:1-27.
- Möller R (2002) Insects could exploit UV-green contrast for landmark navigation. *J Theor Biol*, 24:619-631.
- Moreno DS, Fargerlund J, Ewart WH (1984) Citrus mealybug (Homoptera: Pseudococcidae): behavior of males in response to sex pheromone in laboratory and field. *Ann Entomol Soc Am* 77:32-38.
- Mote MI, Goldsmith TH (1970) Spectral sensitivities of color receptors in the compound eye of the cockroach *Periplaneta*. *J Exp Zool* 173:137-145.
- Mote MI, Wehner R (1980) Functional characteristics of photoreceptors in the compound eye and ocellus of the desert ant, *Cataglyphis bicolor*. *J Comp Physiol* 137:63-71.
- Mouco JP (2006) Bases para o desenvolvimento de uma tática biotécnica de atração e morte para cochonilhas-algodão: caracterização do desenvolvimento dos machos de *Planococcus citri* (Risso). *Rel Trab Fim Curso Eng Agron, ISA/UTL, Lisboa*.
- Neumeyer C (1991) Evolution of colour vision. In: Cronly-Dillon J (ed), *Vision and visual disfunction*, Vol.2. Macmillanm Houndsmills, 284-305.

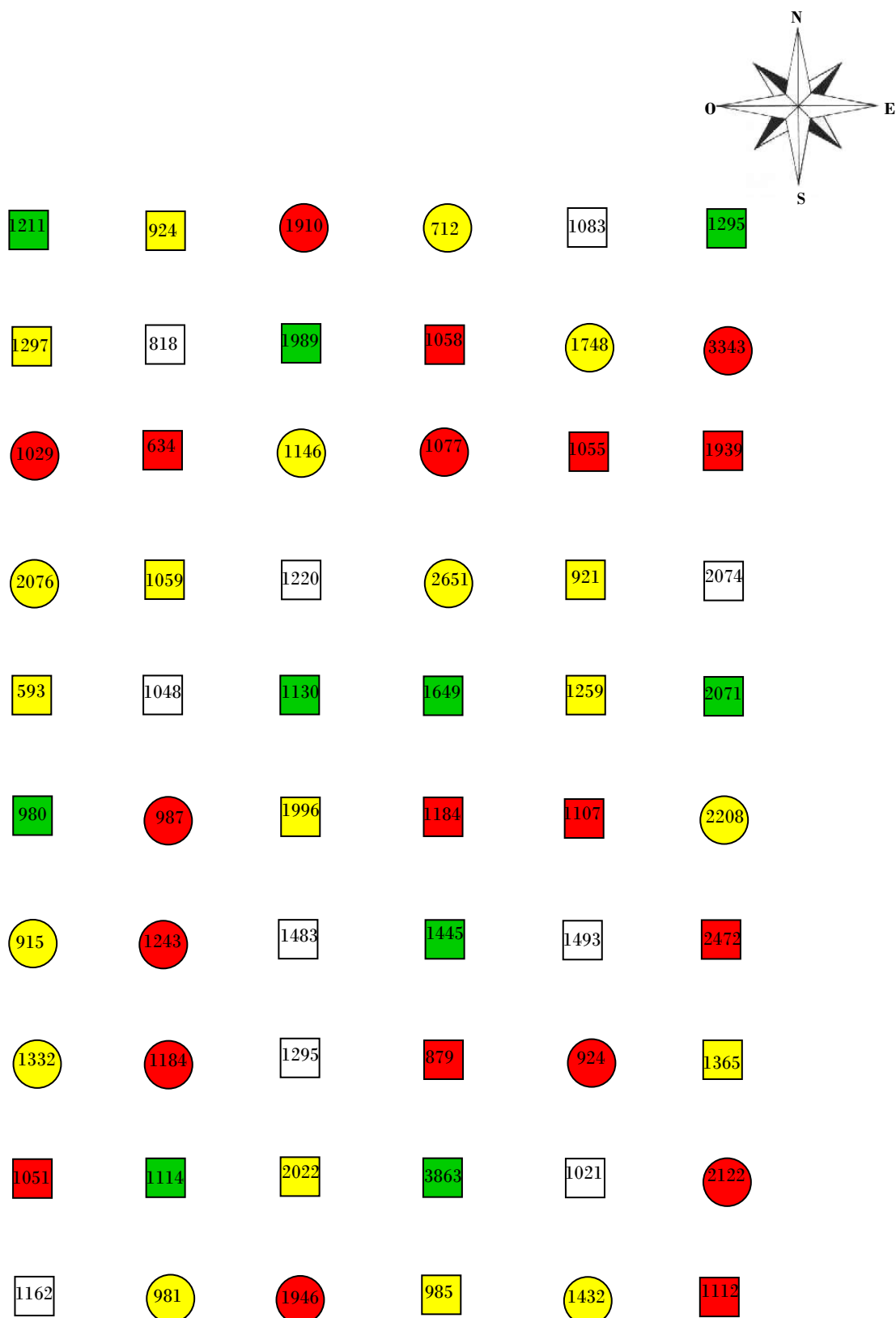
- Ortu S (1986) *Planococcus citri* (Risso) control in Sardinia. In: Cavalloro R & Martino E Di (eds) Integrated Pest Control in citrus-groves. Proc Expert Meet, Acireale, 1985. AA Balkema, Rotterdam, pp. 411-416.
- Ortu S, Delrio G (1982) Osservazioni sull'impiego in campo del feromone sessuale di sintesi di *Planococcus citri* (Risso) (Homoptera, Coccoidea). Redia 65:341-353.
- Passaro LC, Webster FX (2004) Synthesis of the female sex pheromone of the citrus mealybug, *Planococcus citri*. J Agric Food Chem, 52:2896-2899.
- Passarinho AMP (2004) Efeito da encapsulação na actividade do parasitóide *Anagyrus pseudococci*. Rel Trab Fim Curso Eng Agron, ISA/UTL, Lisboa.
- Parker GA (1978) Evolution of competitive mate searching. Ann Rev Entomol 23:173-196.
- Pichaud F, Briscoe A, Desplan C (1999) Evolution of color vision. Current Opinion in Neurobiology 9:622-627.
- Pinto A (2006) Bases para o desenvolvimento de uma tática biotécnica de “atração e morte” para cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae). Efeito de factores de natureza visuais na atracção dos machos relativamente a fontes de feromona. Rel Trab Fim Curso Eng Agron, ISA/UTL, Lisboa.
- Pix W, Zanker J M, Zeil J (2000) The optomotor response and spatial resolution of the visual system in male *Xenos vesparum* (Sterpsiptera). J Exp Biol 203:3397-3409.
- Pollock JA, Benzer S (1988) Transcript localization of four opsin genes in the three visual organs of *Drosophila*; RH2 is ocellus specific. Nature 333:779-782.
- Prokopy RJ, Owens ED (1983) Visual detection of plants by herbivorous insects. Annu Rev Entomol 28:337-364.
- Reissig WH, Fein BL, Roelofs WL (1982) Field tests of synthetic apple volatiles as apple maggot (Diptera:Tephritidae) attractants *Rhagoletis pomonella*. Environ Entomol 11:1294-1298.
- Reissig WH, Stanley BH, Roelofs WL, Schwarz MR (1985) Tests of synthetic apple volatiles in traps as attractants for apple maggot flies (Diptera:Tephritidae) in commercial apple orchards. Environ Entomol 14:55-59.
- Reynolds AH, Prokopy RJ (1997) Evaluation of odor lures for use with red sticky spheres to trap apple maggot (Diptera:Tephritidae). J Econ Entomol 90:1655-1660.
- Rotundo G, Tremblay E (1982) Preliminary report on the attractivity of the synthetic pheromone of *Planococcus citri* (Risso) (Homoptera, Coccoidea). Redia 65:341-353
- Salcedo E, Zheng L, Meridee P, Bagg EE, Britt SG (2003) Molecular basis for ultraviolet vision in invertebrates. J Neurosci, 23(4):10873-10878.
- Salema R, Santos I (1992) Microscopia electrónica de transmissão – instrumentação e técnicas para material biológico. Instituto Nacional de Investigação Científica, Lisboa.
- Schmitz H, Bleckmann H (1998) The photomechanic infrared receptor for the detection of forest fires in the beetle *Melanophila acuminata*. J Comp Physiol A 182:647-657.
- Silberglied RE (1979) Communication in the ultraviolet. Ann Rev Ecol Syst 10:373-98.

- Silva EB (2000) Cálculo de prejuízos provocados por *Planococcus citri* (Risso) em citrinos. Tese Doutor Eng Agron, ISA/UTL, Lisboa.
- Silva EB, Mouco J, Antunes R, Mendel Z, Franco JC (2008) Mate location and sexual maturity of adult male mealybugs: narrow window of opportunity in a short lifetime. IOBC/WPRS Bull (in publ).
- Smith D, Beattie GAC, Broadley R (eds) (1997) Citrus pests and their natural enemies. Integrated pest management in Australia. DPI, Brisbane.
- Sokal RR & Rohlf FJ (1987) Introduction to biostatistics. WH Freeman and Company, New York.
- Skorupski P, Döring TF, Chittka L (2007) Photoreceptor spectral sensitivity in island and mainland populations of the bumblebee, *Bombus terrestris*. J Comp Physiol A 193(5):485-494.
- Stange G (1981). The ocellar component of flight equilibrium control in dragonflies. J Comp Physiol A 141:335-347.
- Stavenga DG (2006) Invertebrate photoreceptor optics. In: Eric W, Dan-Eric N (eds.) Invertebrate vision. Cambridge University Press, New York, pp. 1-42.
- Suckling DM (2000) Issues affecting the use of pheromone and other semiochemicals in orchards. Crop Prot 19:677-683.
- Summy KR, French JV, Hart WG (1986) Citrus mealybug (Homoptera: Pseudococcidae) on greenhouse citrus: density dependent regulation by an encyrtid parasite complex. J Econ Entomol 79:891-894
- Szentesi A, Weber DC, Jermy T (2002) Role of visual stimuli in host and mate location of the Colorado potato beetle. Entomol Exp Appl 105:141-152.
- Tauber MJ, Tauber CA, Masaki S (1984) Adaptations to hazardous seasonal conditions: dormancy, migration, and polymorphism. In: Huffaker CB & Rabb RL (eds) Ecological entomology. John Wiley & Sons, New York, pp. 149-183.
- Tauber O, Sternlicht M, Hefetz A (1985) Preliminary observations on the behaviour of male *Planococcus citri* exposed to the synthetic sex pheromone, with references to its applicability for population monitoring. Phytoparasitica 13(2):148.
- Tovée MJ (1995) Ultra-violet photoreceptors in the animal kingdom – their distribution and function. Trends Ecol Evol 10:455-460.
- von Frisch K (1914) Der Farbensinn und Formensinn der Biene. Zool Jahrb Abt allg Zool Physiol Tiere 35: 1-188. (Cited in Kelber 2006)
- Wehner R (1992) Arthropods. In: Papi F (ed) Animal homing. Chapman and Hall, London, pp. 45-144.
- Wehner R (2001) Polarization vision – a uniform sensory capacity? J Experim Biol 204:2589-2586.
- Wehner R & Labhart T (2006) Polarisation vision. In: Eric W, Dan-Eric N (eds) Invertebrate vision. Cambridge University Press, New York, pp. 291-348.
- Wilson M (1978) The functional organization of locust ocelli. J Comp Physiol 124:297-316.
- Wu WY, Chen YP, Yang EC (2007) Chromatic cues to trap the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*. J Ins Physiol 53:509-516.

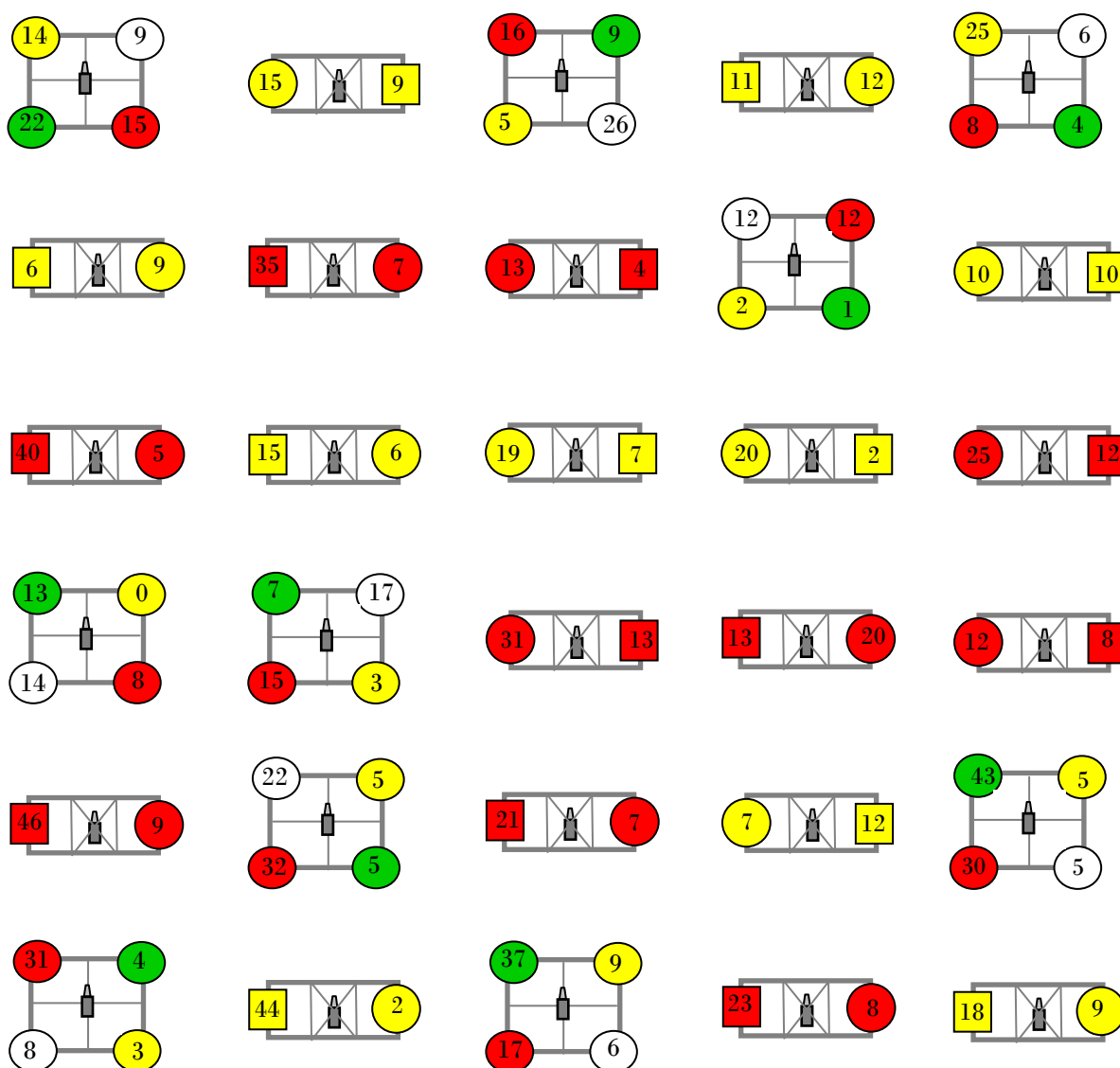
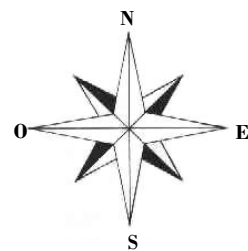
- Zada A, Dunkelblum E, Assael F, Franco JC, Silva EB, Protasov A, Mendel Z (2008) Attraction of *Planococcus ficus* males to racemic and chiral pheromone baits: flight activity and bait longevity. J Appl Entomol 132:480-489
- Zada A, Dunkelblum E, Harel M, Assael F, Gross S, Mendel Z (2004) Sex pheromone of the citrus mealybug *Planococcus citri*: synthesis and optimization of trap parameters. J Econ Entomol 97(2):361-368.
- Zhang A, Linn C, Wright S, Prokopy R, Reissig W, Roelofs W (1999) Identification of a new blend of apple volatiles attractive to the apple maggot, *Rhagoletis pomonella*. J Chem Ecol 25:1221-1232.
- Zufall F, Schmitt M & Menzel R (1989) Spectral and polarized light sensitivity of photoreceptors in the compound eye of the cricket (*Gryllus bimaculatus*). J Comp Physiol 164:597-608.

ANEXOS

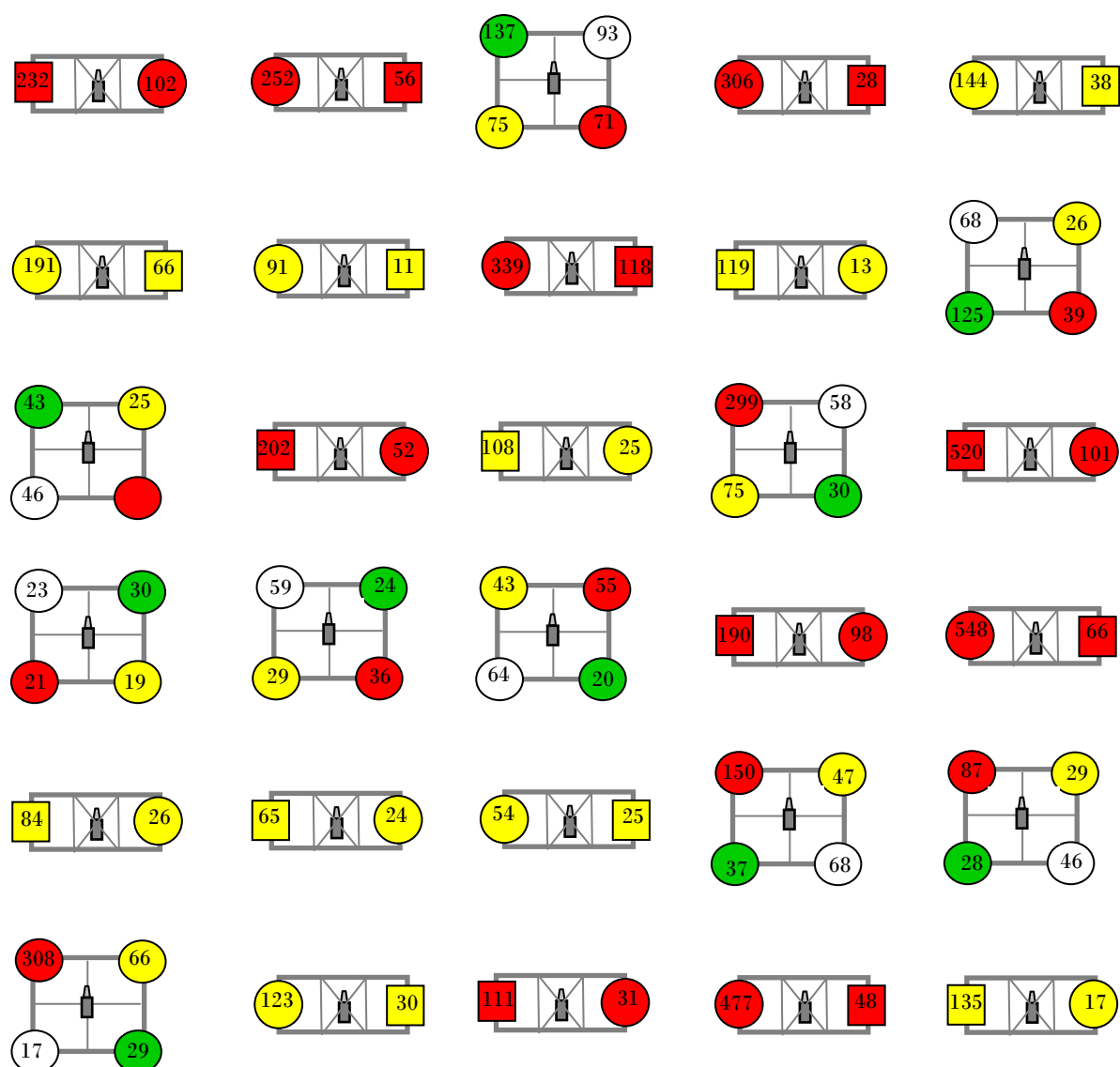
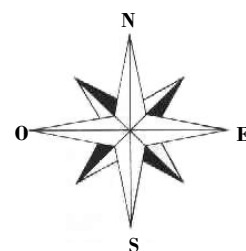
Anexo 1 - Representação da casualização do ensaio de campo COR/FORMA instalado na parcela da Quinta do Ó, em Silves, segundo um sistema de casualização total, entre 18 e 26 de Julho de 2007, e das densidades de machos de *Planococcus citri* (Risso) capturados em cada placa cromotrópica adesiva.



Anexo 2- Representação da casualização do ensaio de campo COR/FORMA instalado na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT), segundo um sistema de blocos casualizados, entre 12 e 19 de Setembro de 2007, e das densidades de machos de *Planococcus citri* (Risso) capturados em cada placa cromotrópica adesiva.



Anexo 3- Representação da casualização do ensaio de campo COR/FORMA instalado na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT), segundo um sistema de blocos casualizados, entre 16 e 30 de Julho de 2008, e das densidades de machos de *Planococcus citri* (Risso) capturados em cada placa cromotrópica adesiva.



Anexo 4 - Registo do número de machos de *Planococcus citri* (Risso) capturados em cada modalidade (verde, vermelho, branco, amarelo), nas 20 repetições do ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizado em condições controladas, no período da manhã (8:00-9:00), com a população de Silves, criada em câmara climatizada na ausência de fotoperíodo.

cor	ensaio	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
verde		13	12	4	2	8	6	8	6	8	10	11	7	10	6	6	5	12	13	12	6
vermelho		19	3	14	13	19	22	15	24	12	26	18	18	17	12	10	25	19	20	16	11
branco		3	11	6	8	3	4	8	9	6	4	2	7	2	6	3	3	3	2	4	0
amarelo		9	2	3	4	10	8	8	3	3	4	10	5	8	8	7	11	14	9	11	9
não respostas		0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL		44	30	28	27	40	40	39	42	29	44	41	37	38	32	26	44	48	44	43	26

Anexo 5 - Registo do número de machos de *Planococcus citri* (Risso) capturados em cada modalidade (verde, vermelho, branco, amarelo), nas 20 repetições do ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizado em condições controladas, no período da tarde (16:00-18:00), com a população de Silves, criada em câmara climatizada na ausência de fotoperíodo.

cor	ensaio	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
verde		3	3	1	5	2	2	5	3	4	4	6	6	9	6	4	6	2	2	9	6
vermelho		11	12	8	10	18	10	8	19	11	17	9	14	3	17	11	10	15	9	9	14
branco		26	17	19	11	21	18	10	16	8	16	16	13	21	11	15	14	5	11	17	21
amarelo		9	5	5	7	2	9	8	6	3	4	9	7	6	8	3	2	11	3	4	8
não respostas		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
TOTAL		49	37	33	33	43	39	32	44	26	41	40	40	39	42	33	32	33	25	40	49

Anexo 6 - Registo do número de machos de *Planococcus citri* (Risso) capturados em cada modalidade (verde, vermelho, branco, amarelo), nas 20 repetições do ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizado em condições controladas, no período da manhã (8:00-9:00), com a população de Tavira (CEAT) criada com exposição ao fotoperíodo natural.

cor	ensaio	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
verde		5	13	8	4	7	2	9	12	6	2	5	10	8	4	9	5	6	4	9	5
vermelho		21	10	12	17	14	12	8	10	17	16	12	20	13	11	20	10	10	15	16	24
branco		3	3	14	14	15	12	6	7	3	15	10	11	6	20	8	9	25	19	9	12
amarelo		6	6	8	6	4	2	4	3	5	11	2	3	3	5	5	7	2	6	10	5
não respostas		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL		35	32	42	41	41	28	27	32	31	44	29	44	30	40	42	31	43	44	44	46

Anexo 7 - Análise estatística dos resultados do ensaio de campo “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizado entre 18 e 26 de Julho de 2007, segundo um sistema de casualização total, na parcela da Quinta do Ó, em Silves.

Estatística Descritiva

Variável dependente: número de machos capturados por armadilha

Variável independente: cor da armadilha

Cor da armadilha	Média	Desvio Padrão	N
1 (verde)	1674,70	853,15	10
2 (vermelho)	1249,10	541,95	10
3 (branco)	1269,70	350,69	10
4 (amarelo)	1242,10	461,91	10
Total	1358,90	589,55	40

Análise de Variância

Variável dependente: número de machos capturados por armadilha, após transformação logarítmica

Variável independente: cor da armadilha

Fonte de variação	Somatório de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio dos desvios	F	Sig.
Modelo corrigido	0,518 ^a	3	0,173	1,339	0,277
Intersecção	2041,678	1	2041,678	15841,259	0,000
COR	0,518	3	0,173	1,339	0,277
Resíduo	4,640	36	0,129		
Total	2046,836	40			
Total corrigido	5,157	39			

a. $R^2 = 0,100$ (R^2 ajustado = 0,025)

Anexo 8 - Análise estatística dos resultados do ensaio de campo “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizado entre 12 e 19 de Setembro de 2007, segundo um sistema de blocos casualizados, na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT).

Estatística Descritiva

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha

Variável independente: cor da armadilha

Cor da armadilha	Média	Desvio Padrão	N
1 (verde)	0,205	0,164	10
2 (vermelho)	0,381	0,175	10
3 (branco)	0,271	0,153	10
4 (amarelo)	0,143	0,165	10
Total	0,250	0,181	40

Análise de Variância

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha, após transformação angular

Variável independente: cor da armadilha

Fonte de variação	Somatório de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio dos desvios	F	Sig.
Modelo corrigido	0,531 ^a	3	0,177	4,574	0,008
Intersecção	9,826	1	9,826	253,874	0,000
COR	0,531	3	0,177	4,574	0,008
Resíduo	1,393	36	0,039		
Total	11,75	40			
Total corrigido	1,924	39			

a. $R^2 = 0,276$ (R^2 ajustado = 0,216)

Test Post Hoc (Student-Newman-Keuls^a)

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha, após transformação angular

Variável independente: cor da armadilha

Cor da armadilha	N	Subconjunto	
		1	2
4 (amarelo)	10	0,346	
1 (verde)	10	0,444	
3 (branco)	10	0,532	0,532
2 (vermelho)	10		0,660
Sig		0,102	0,157

a. $\alpha = 0,05$

Anexo 9 - Análise estatística dos resultados do ensaio de campo “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizado entre 16 e 30 de Julho 2008, segundo um sistema de blocos casualizados, na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT).

Estatística Descritiva

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha

Variável independente: cor da armadilha

Cor da armadilha	Média	Desvio padrão	N
1 (verde)	0,217	0,145	10
2 (vermelho)	0,360	0,211	10
3 (branco)	0,249	0,1061	10
4 (amarelo)	0,175	0,037	10
Total	0,250	0,151	40

Análise de Variância

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha, após transformação angular

Variável independente: cor da armadilha

Fonte de variação	Somatório de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio dos desvios	F	Sig.
Modelo corrigido	0,235 ^a	3	0,078	2,989	0,044
Intersecção	10,377	1	10,377	395,855	0,000
COR	0,235	3	0,078	2,989	0,044
Resíduo	0,944	36	0,026		
Total	11,556	40			
Total corrigido	1,179	39			

a. $R^2 = 0,199$ (R^2 ajustado = 0,133)

Test Post Hoc (Student-Newman-Keuls^{a,b})

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha, após transformação angular

Variável independente: cor da armadilha

Cor da armadilha	N	Subconjunto	
		1	2
4 (amarelo)	10	0,430	
1 (verde)	10	0,465	0,465
3 (branco)	10	0,510	0,510
2 (vermelho)	10		0,633
Sig		0,517	0,067

a. $\alpha = 0,05$

Anexo 10 - Análise estatística da influência da posição das placas cromotrópicas adesivas no dispositivo de arame (esquerda superior, esquerda inferior, direita superior, direita inferior) utilizado no ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizado entre 12 e 19 de Setembro de 2007, segundo um sistema de blocos casualizados, na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT).

Estatística Descritiva

Variável dependente: proporção de machos capturados por posição

Variável independente: posição da armadilha

Posição da armadilha	Média	Desvio Padrão	N
1 (esquerda superior)	0,379	0,178	10
2 (esquerda inferior)	0,303	0,182	10
3 (direita superior)	0,170	0,142	10
4 (direita inferior)	0,148	0,131	10
Total	0,250	0,181	40

Análise de Variância

Variável dependente: proporção de machos capturados por posição, após transformação angular

Variável independente: posição da armadilha

Fonte de variação	Somatório de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio dos desvios	F	Sig.
Modelo corrigido	0,568 ^a	3	0,189	5,031	0,005
Intersecção	9,826	1	9,826	260,870	0,000
COR	0,568	3	0,189	5,031	0,005
Resíduo	1,356	36	0,038		
Total	11,750	40			
Total corrigido	1,924	39			

a. $R^2 = 0,295$ (R^2 ajustado = 0,237)

Test Post Hoc (Student-Newman-Keuls^{a,b})

Variável dependente: proporção de machos capturados por posição, após transformação angular

Variável independente: posição da armadilha

Posição da armadilha	N	Subconjunto	
		1	2
4 (direita inferior)	10	0,372	
3 (direita superior)	10	0,390	
2 (esquerda inferior)	10	0,566	0,566
1 (esquerda superior)	10		0,655
Sig	40	0,078	0,314

a. $\alpha = 0,05$

Anexo 11 - Análise estatística da influência da posição das placas cromotrópicas adesivas no dispositivo de arame (esquerda superior, esquerda inferior, direita superior, direita inferior) utilizado no ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizado entre 16 e 30 de Julho 2008, segundo um sistema de blocos casualizados, na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Távira (CEAT).

Estatística Descritiva

Variável dependente: proporção de machos capturados por posição

Variável independente: posição da armadilha

Posição da armadilha	Média	Desvio Padrão	N
1 (esquerda superior)	0,417	0,170	10
2 (esquerda inferior)	0,227	0,131	10
3 (direita superior)	0,191	0,075	10
4 (direita inferior)	0,165	0,067	10
Total	0,250	0,151	40

Análise de Variância

Variável dependente: proporção de machos capturados por posição, após transformação angular

Variável independente: posição da armadilha

Fonte de variação	Somatório de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio dos desvios	F	Sig.
Modelo corrigido	0,505 ^a	3	0,168	8,988	0,000
Intersecção	10,377	1	10,377	554,293	0,000
COR	0,505	3	0,168	8,988	0,000
Resíduo	0,674	36	0,019		
Total	11,556	40			
Total corrigido	1,179	39			

a. $R^2 = 0,428$ (R^2 ajustado = 0,381)

Test Post Hoc (Student-Newman-Keuls^{a,b})

Variável dependente: proporção de machos capturados por posição, após transformação angular

Variável independente: posição da armadilha

Posição da armadilha	N	Subconjunto	
		1	2
4 (direita inferior)	10	0,410	
3 (direita superior)	10	0,447	
2 (esquerda inferior)	10	0,482	
1 (esquerda superior)	10		0,699
Sig	40	0,479	1,000

a. $\alpha = 0,05$

Anexo 12 - Análise estatística dos resultados das 20 repetições do ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizadas em condições controladas de laboratório, no período da manhã (8:00-9:00), com a população de Silves, criada em câmara climatizada na ausência de fotoperíodo.

Estatística Descritiva

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha

Variável independente: cor da armadilha

Cor da armadilha	Média	Desvio padrão	N
1 (verde)	0,221	0,075	20
2 (vermelho)	0,442	0,105	20
3 (branco)	0,135	0,095	20
4 (amarelo)	0,195	0,079	20
Total	0,248	0,146	80

Análise de Variância

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha, após transformação angular

Variável independente: cor da armadilha

Fonte de variação	Somatório de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio dos desvios	F	Sig.
Modelo corrigido	1,500 ^a	3	0,500	35,611	0,000
Intersecção	20,180	1	20,180	1437,452	0,000
COR	1,500	3	0,500	35,611	0,000
Resíduo	1,067	76	0,014		
Total	22,747	80			
Total corrigido	2,567	79			

a. $R^2 = 0,584$ (R^2 ajustado = 0,568)

Test Post Hoc (Student-Newman-Keuls ^{a,b})

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha, após transformação angular

Variável independente: cor da armadilha

Cor da armadilha	N	Subconjunto		
		1	2	3
3 (branco)	20	0,352		
4 (amarelo)	20		0,449	
1 (verde)	20		0,484	
2 (vermelho)	20			0,724
Sig		1,00	0,359	1,000

a. $\alpha = 0,05$

Anexo 13 - Análise estatística dos resultados das 20 repetições do ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizadas em condições controladas de laboratório, no período da tarde (16:00-18:00), com a população de Silves, criada em câmara climatizada na ausência de fotoperíodo.

Estatística Descritiva

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha

Variável independente: cor da armadilha

Cor da armadilha	Média	Desvio padrão	N
1 (verde)	0,118	0,059	20
2 (vermelho)	0,316	0,095	20
3 (branco)	0,404	0,102	20
4 (amarelo)	0,159	0,069	20
Total	0,249	0,142	80

Análise de Variância

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha, após transformação angular

Variável independente: cor da armadilha

Fonte de variação	Somatório de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio dos desvios	F	Sig.
Modelo corrigido	1,557 ^a	3	0,519	49,604	0,000
Intersecção	20,410	1	20,410	1950,354	0,000
COR	1,557	3	0,519	49,604	0,000
Resíduo	0,795	76	0,010		
Total	22,763	80			
Total corrigido	2,353	79			

a. $R^2 = 0,662$ (R^2 ajustado = 0,649)

Test Post Hoc (Student-Newman-Keuls^{a,b})

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha, após transformação angular

Variável independente: cor da armadilha

Cor da armadilha	N	Subconjunto		
		1	2	3
1 (verde)	20	0,341		
4 (amarelo)	20	0,401		
2 (vermelho)	20		0,591	
3 (branco)	20			0,686
Sig		0,067	1,000	1,000

a. $\alpha = 0,05$

Anexo 14 - Análise estatística dos resultados das 40 repetições do ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizadas em condições controladas de laboratório com a população de Silves, criada em câmara climatizada na ausência de fotoperíodo (20 ensaios da manhã + 20 ensaios da tarde).

Estatística Descritiva

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha

Variável independente: cor da armadilha

Cor da armadilha	Média	Desvio padrão	N
1 (verde)	0,170	0,084	40
2 (vermelho)	0,379	0,118	40
3 (branco)	0,270	0,168	40
4 (amarelo)	0,177	0,076	40
Total	0,249	0,144	160

Análise de Variância

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha, após transformação angular

Variável independente: cor da armadilha

Fonte de variação	Somatório de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio dos desvios	F	Sig.
Modelo corrigido	1,538 ^a	3	0,513	23,659	0,000
Intersecção	40,590	1	40,590	1872,675	0,000
COR	1,538	3	0,513	23,659	0,000
Resíduo	3,381	156	0,022		
Total	45,510	160			
Total corrigido	4,920	159			

a. $R^2 = 0,313$ (R^2 ajustado = 0,299)

Test Post Hoc (Student-Newman-Keuls^{a,b})

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha, após transformação angular

Variável independente: cor da armadilha

Cor da armadilha	N	Subconjunto		
		1	2	3
1 (verde)	40	0,413		
4 (amarelo)	40	0,425		
3 (branco)	40		0,519	
2 (vermelho)	40			0,658
Sig		0,698	1,000	1,000

a. $\alpha = 0,05$

Anexo 15 - Análise estatística dos resultados das 20 repetições do ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizadas em condições controladas de laboratório, no período da manhã (8:00-9:00), com a população do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT), mantida com fotoperíodo natural.

Estatística Descritiva

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha

Variável independente: cor da armadilha

Cor da armadilha	Média	Desvio padrão	N
1 (verde)	0,186	0,098	20
2 (vermelho)	0,387	0,098	20
3 (branco)	0,289	0,134	20
4 (amarelo)	0,137	0,058	20
Total	0,250	0,138	80

Análise de Variância

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha, após transformação angular

Variável independente: cor da armadilha

Fonte de variação	Somatório de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio dos desvios	F	Sig.
Modelo corrigido	1,050 ^a	3	0,350	24,509	0,000
Intersecção	20,638	1	20,638	1445,300	0,000
COR	1,050	3	0,350	24,509	0,000
Resíduo	1,085	76	0,014		
Total	22,773	80			
Total corrigido	2,135	79			

a. $R^2 = 0,492$ (R^2 ajustado = 0,472)

Test Post Hoc (Student-Newman-Keuls^{a,b})

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha, após transformação angular

Variável independente: cor da armadilha

Cor da armadilha	N	Subconjunto		
		1	2	3
4 (amarelo)	20	0,372		
1 (verde)	20	0,433		
3 (branco)	20		0,557	
2 (vermelho)	20			0,669
Sig		0,108	1,000	1,000

a. $\alpha = 0,05$

Anexo 16 - Análise estatística do tipo de locomoção utilizado pelos machos de *Planococcus citri* (Risso) nas respostas cromáticas observadas nas 20 repetições do ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizadas em condições controladas, no período da manhã (8:00-9:00), com a população de Silves, criada em câmara climatizada na ausência de fotoperíodo.

Estatística Descritiva

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha

Variável independente: cor da armadilha

Cor da armadilha	Média	Desvio Padrão	N
1 (verde)	0,320	0,279	20
2 (vermelho)	0,302	0,283	20
3 (branco)	0,401	0,307	20
4 (amarelo)	0,319	0,266	20
Total	0,336	0,281	80

Análise de Variância

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha, após transformação angular

Variável independente: cor da armadilha

Fonte de variação	Somatório de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio dos desvios	F	Sig.
Modelo corrigido	0,309 ^a	3	0,103	0,655	0,582
Intersecção	25,061	1	25,061	159,585	0,000
COR	0,309	3	0,103	0,655	0,582
Resíduo	11,935	76	0,157		
Total	37,304	80			
Total corrigido	12,244	79			

a. $R^2 = 0,025$ (R^2 ajustado = -0.013)

Test Post Hoc (Student-Newman-Keuls^{a,b})

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha, após transformação angular

Variável independente: cor da armadilha

Cor da armadilha	N	Subconjunto 1
1 (verde)	20	0,520
2 (vermelho)	20	0,524
4 (amarelo)	20	0,527
3 (branco)	20	0,667
Sig	80	0,645

a. $\alpha = 0,05$

Anexo 17 - Análise estatística do tipo de locomoção utilizado pelos machos de *Planococcus citri* (Risso) nas respostas cromáticas observadas nas 20 repetições do ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizadas em condições controladas, no período da tarde (16:00-18:00), com a população de Silves, criada em câmara climatizada na ausência de fotoperíodo.

Estatística Descritiva

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha

Variável independente: cor da armadilha

Cor da armadilha	Média	Desvio Padrão	N
1 (verde)	0,237	0,256	20
2 (vermelho)	0,230	0,233	20
3 (branco)	0,334	0,222	20
4 (amarelo)	0,315	0,220	20
Total	0,279	0,233	80

Análise de Variância

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha, após transformação angular

Variável independente: cor da armadilha

Fonte de variação	Somatório de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio dos desvios	F	Sig.
Modelo corrigido	0,465 ^a	3	0,155	1,398	0,250
Intersecção	19,592	1	019,592	176,632	0,000
COR	0,465	3	0,155	1,398	0,250
Resíduo	8,430	76	0,111		
Total	28,488	80			
Total corrigido	8,895	79			

a. $R^2 = 0,052$ (R^2 ajustado = 0.015)

Test Post Hoc (Student-Newman-Keuls ^{a,b})

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha, após transformação angular

Variável independente: cor da armadilha

Cor da armadilha	N	Subconjunto 1
2 (vermelho)	20	0,415
1 (verde)	20	0,429
4 (amarelo)	20	0,538
3 (branco)	20	0,598
Sig	80	0,309

a. $\alpha = 0,05$

Anexo 18 - Análise estatística do tipo de locomoção utilizado pelos machos de *Planococcus citri* (Risso) nas respostas cromáticas observadas nas 20 repetições do ensaio “Influência da COR da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizadas em condições controladas, no período da manhã (8:00-10:00), com a população do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT), mantida com fotoperíodo natural.

Estatística Descritiva

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha

Variável independente: cor da armadilha

Cor da armadilha	Média	Desvio Padrão	N
1 (verde)	0,519	0,228	20
2 (vermelho)	0,519	0,238	20
3 (branco)	0,588	0,241	20
4 (amarelo)	0,551	0,313	20
Total	0,544	0,254	80

Análise de Variância

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha, após transformação angular

Variável independente: cor da armadilha

Fonte de variação	Somatório de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio dos desvios	F	Sig.
Modelo corrigido	0,183 ^a	3	0,061	0,544	0,654
Intersecção	57,035	1	57,035	508,253	0,000
COR	0,183	3	0,061	0,544	0,654
Resíduo	8,529	76	0,112		
Total	65,746	80			
Total corrigido	8,712	79			

a. $R^2 = 0,021$ (R^2 ajustado = - 0,018)

Test Post Hoc (Student-Newman-Keuls ^{a,b})

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha, após transformação angular

Variável independente: cor da armadilha

Cor da armadilha	N	Subconjunto 1
1 (verde)	20	0,7956
2 (vermelho)	20	0,8094
4 (amarelo)	20	0,8541
3 (branco)	20	0,9183
Sig	80	0,655

a. $\alpha = 0,05$

Anexo 19 - Análise estatística dos resultados do ensaio de campo “Influência da FORMA da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizado entre 18 e 26 de Julho de 2007, segundo um sistema de casualização total, na parcela da Quinta do Ó, em Silves.

Estatística Descritiva

Variável dependente: número de machos capturados por armadilha

Variável independente: forma da armadilha cromotrópica

Cor da armadilha	Média	Desvio padrão	N
1 (amarelo quadrado)	1242,10	461,912	10
2 (amarelo circular)	1520,10	632,982	10
3 (vermelho quadrado)	1249,10	541,955	10
4 (vermelho circular)	1576,50	764,028	10
Total	1396,95	606,710	40

Análise de Variância

Variável dependente: número de machos capturados por armadilha, após transformação logarítmica

Variável independente: forma da armadilha cromotrópica

Fonte de variação	Somatório de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio dos desvios	F	Sig.
Modelo corrigido	0,401 ^a	3	0,134	0,829	0,486
Intersecção	2051,488	1	2051,488	12737,333	0,000
COR	0,401	3	0,134	0,829	0,486
Resíduo	5,798	36	0,161		
Total	2057,687	40			
Total corrigido	6,199	39			

a. $R^2 = 0,065$ (R^2 ajustado = - 0,013)

Anexo 20 - Análise estatística dos resultados do ensaio de campo “Influência da FORMA da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizado entre 12 e 19 de Setembro de 2007, segundo um sistema de blocos casualizados, na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT).

Estatística Descritiva (ARMADILHAS AMARELAS)

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha amarela

Variável independente: forma da armadilha amarela

FORMA da armadilha	Média	Desvio padrão	N
1 (quadrada)	0,508	0,246	10
2 (circular)	0,492	0,246	10
Total	0,500	0,240	20

Análise de Variância e de Média (ARMADILHAS AMARELAS)

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha amarela após transformação angular

Variável independente: forma da armadilha amarela

	Teste da igualdade de variâncias (Teste Levene)		Teste de igualdade de médias (Teste T)		
	F	Sig.	t	df	Sig
assumindo igualdade de variâncias	0,000	1,000	0,206	18	0,839
não assumindo igualdade de variâncias			0,206	18	0,839

Estatística Descritiva (ARMADILHAS VERMELHAS)

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha vermelha

Variável independente: forma da armadilha vermelha

FORMA da armadilha	Média	Desvio padrão	N
1 (quadrada)	0,550	0,253	10
2 (circular)	0,450	0,253	10
Total	0,500	0,251	20

Análise de Variância e de Média (ARMADILHAS VERMELHAS)

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha vermelha após transformação angular

Variável independente: forma da armadilha vermelha

	Teste da igualdade de variâncias (Teste Levene)		Teste de igualdade de médias (Teste T)		
	F	Sig.	t	df	Sig
assumindo igualdade de variâncias	0,000	1,000	0,994	18	0,333
não assumindo igualdade de variâncias			0,994	18	0,333

Anexo 21 - Análise estatística dos resultados do ensaio de campo “Influência da FORMA da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizado entre 16 e 30 de Julho 2008, segundo um sistema de blocos casualizados, na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT).

Estatística Descritiva (ARMADILHAS AMARELAS)

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha amarela

Variável independente: forma da armadilha amarela

FORMA da armadilha	Média	Desvio padrão	N
1 (quadrada)	0,518	0,325	10
2 (circular)	0,482	0,325	10
Total	0,500	0,317	20

Análise de Variância e de Média (ARMADILHAS AMARELAS)

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha amarela após transformação angular

Variável independente: forma da armadilha amarela

	Teste da igualdade de variâncias (Teste Levene)		Teste de igualdade de médias (Teste T)		
	F	Sig.	t	df	Sig
assumindo igualdade de variâncias	0,000	1,000	0,292	18	0,774
não assumindo igualdade de variâncias			0,292	18	0,774

Estatística Descritiva (ARMADILHAS VERMELHAS)

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha vermelho

Variável independente: forma da armadilha vermelho

FORMA da armadilha	Média	Desvio padrão	N
1 (quadrada)	0,449	0,329	10
2 (circular)	0,551	0,329	10
Total	0,500	0,324	20

Análise de Variância e de Média (ARMADILHAS VERMELHAS)

Variável dependente: proporção de machos capturados por armadilha vermelha após transformação angular

Variável independente: forma da armadilha vermelha

	Teste da igualdade de variâncias (Teste Levene)		Teste de igualdade de médias (Teste T)		
	F	Sig.	t	df	Sig
assumindo igualdade de variâncias	0,000	1,000	-0,820	18	0,423
não assumindo igualdade de variâncias			-0,820		

Anexo 22 - Análise estatística da influência da posição das placas cromotrópicas adesivas no dispositivo de arame (esquerda, direita) utilizado no ensaio “Influência da FORMA da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizado entre 12 e 19 de Setembro de 2007, segundo um sistema de blocos casualizados, na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT).

Estatística Descritiva

Variável dependente: proporção de machos capturados por posição

Variável independente: posição da armadilha

Posição da armadilha	Média	Desvio Padrão	N
1 (esquerda)	0,667	0,176	20
2 (direita)	0,333	0,176	20
Total	0,500	0,243	40

Análise de Variância e de Média

Variável dependente: proporção de machos capturados por posição após transformação angular

Variável independente: posição da armadilha

	Teste da igualdade de variâncias (Teste Levene)		Teste de igualdade de médias (Teste T)		
	F	Sig.	t	df	Sig
assumindo igualdade de variâncias	0,000	1,000	5,839	38	0,000
não assumindo igualdade de variâncias			5,839	38	0,000

Anexo 23 - Análise estatística da influência da posição das placas cromotrópicas adesivas no dispositivo de arame (esquerda, direita) utilizado no ensaio “Influência da FORMA da armadilha sexual na atracção dos machos de *Planococcus citri* (Risso)” realizado entre 16 e 30 de Julho 2008, segundo um sistema de blocos casualizados, na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT).

Estatística Descritiva

Variável dependente: proporção de machos capturados por posição

Variável independente: posição da armadilha

Posição da armadilha	Média	Desvio Padrão	N
1 (esquerda)	0,802	0,079	20
2 (direita)	0,197	0,079	20
Total	0,500	0,316	40

Análise de Variância e de Média

Variável dependente: proporção de machos capturados por posição após transformação angular

Variável independente: posição da armadilha

	Teste da igualdade de variâncias (Teste Levene)		Teste de igualdade de médias (Teste T)		
	F	Sig.	t	df	Sig
assumindo igualdade de variâncias	0,000	1,000	20,522	38	0,000
não assumindo igualdade de variâncias			20,522	38	0,000

Anexo 24 – Análise estatística da influência da cor das armadilhas sexuais utilizadas no ensaio da FORMA, no número de machos de *Planococcus citri* (Risso) capturados no ensaio realizado entre 12 e 19 de Setembro de 2007, segundo um sistema de blocos casualizados, na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT).

Estatística Descritiva

Variável dependente: número de machos capturados por armadilha

Variável independente: cor da armadilha

FORMA da armadilha	Média	Desvio padrão	N
1 (amarela)	12,150	9,028	20
2 (vermelha)	18,100	11,982	20
Total	15,125	10,896	40

Análise de Variância e de Média

Variável dependente: número de machos capturados por armadilha após transformação logarítmica

Variável independente: cor da armadilha

	Teste da igualdade de variâncias (Teste Levene)		Teste de igualdade de médias (Teste T)		
	F	Sig.	t	df	Sig
assumindo igualdade de variâncias	0,286	0,596	1,860	38	0,071
não assumindo igualdade de variâncias			1,860	38	0,071

Anexo 25 – Análise estatística da influência da cor das armadilhas sexuais utilizadas no ensaio da FORMA, no número de machos de *Planococcus citri* (Risso) capturados no ensaio realizado entre 16 e 30 de Julho 2008, segundo um sistema de blocos casualizados, na parcela do Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT).

Estatística Descritiva

Variável dependente: número de machos capturados por armadilha

Variável independente: cor da armadilha

FORMA da armadilha	Média	Desvio padrão	N
1 (amarela)	69,450	52,410	20
2 (vermelha)	193,850	165,460	20
Total	131,650	136,542	40

Análise de Variância e de Média

Variável dependente: número de machos capturados por armadilha após transformação logarítmica

Variável independente: cor da armadilha

	Teste da igualdade de variâncias (Teste Levene)		Teste de igualdade de médias (Teste T)		
	F	Sig.	t	df	Sig
assumindo igualdade de variâncias	0,030	0,863	3,447	38	0,001
não assumindo igualdade de variâncias			3,447	37,844	0,001

Anexo 26 - Dados agrometeorológicos registados pela Estação Meteorológica automática de Norinha (Silves) (Lt(N): 37°12'19,6''; Lg(W): 08°24'22,7''), no período de 18 a 26 de Julho de 2007 (Fonte: DRAALG).

	Tmd	Tmáx	Tmin	HRmd	HRmax	HRmin	DV	VVmd	VVmáx	P
18-Jul-07	23	32	16,4	53	78	28	349	2	6,6	0
19-Jul-07	21,6	28,2	16,5	57	80	36	342	2,1	6,4	0
20-Jul-07	21,7	30,1	15,8	55	68	28	344	2,1	6,6	0
21-Jul-07	21,5	28,3	15,5	55	78	34	344	2	7	0
22-Jul-07	23,3	33,9	14,4	52	92	21	349	1,2	5	0
23-Jul-07	21	31,1	13,4	74	97	46	332	0,9	5,2	0
24-Jul-07	25	35,1	16,8	53	78	25	360	1,3	5,4	0
25-Jul-07	27,9	37,5	18,2	44	70	20	85	0,7	4,7	0
26-Jul-07	27,8	39,6	18,4	42	68	19	19	1,1	6,3	0

Anexo 27 – Dados agrometeorológicos registados pela Estação Meteorológica automática de Tavira (Lt(N): 27°06'54,2''; Lg(W): 07°39'20,6''), no período de 12 a 19 de Setembro de 2007 (Fonte: DRAALG).

	Tmd	Tmáx	Tmin	HRmd	HRmax	HRmin	DV	VVmd	VVmáx	P
12-Set-07	20,7	28,6	17,6	85	97	57	311	0,9	4,1	13,2
13-Set-07	20,8	24,6	17,3	86	98	65	352	0,7	4,4	0
14-Set-07	21,1	25,2	16	83	99	64	275	1	5,3	0
15-Set-07	22,2	27,4	18,4	78	92	54	32	0,7	4,1	0
16-Set-07	22,4	25,6	18,6	84	99	72	149	1,4	5	0
17-Set-07	21	26,4	16,3	83	100	59	287	1,4	7,2	0
18-Set-07	20,5	25,9	14,9	77	99	55	291	1,1	5,9	0
19-Set-07	19,5	24,7	14,6	81	97	62	295	1,1	4,9	0

T temperatura do ar em °C, a 1,5m de altura (md, max, min – médias, máximas e mínimas diárias)

HR humidade relativa do ar em %, a 1,5m de altura (md, max, min – médias, máximas e mínimas diárias)

DV média geométrica diária da direcção do vento a 2,0m de altura (0° ou 360° = Norte; 90° = Oeste; 180° = Sul; 270° = Este)

VV velocidade do vento em m.s⁻¹ a 2,0m de altura (md, max – médias e máximas diárias)

P precipitação acumulada diariamente em mm ou litros.m⁻²

Anexo 28 - Dados agrometeorológicos registados pela Estação Meteorológica automática de Tavira (Lt(N): 27°06'54,2''; Lg(W): 07°39'20,6''), no período de 12 a 19 de Setembro de 2007 (Fonte: DRAALG).

	Tmd	Tmáx	Tmin	HRmd	HRmax	HRmin	DV	VVmd	VVmáx	P
16-Jul-08	23,9	28,9	17,2	61	91	43	295	1,1	5,8	0
17-Jul-08	26	34,1	18,5	60	93	32	302	1,5	4,9	0
18-Jul-08	27,7	35	21,4	55	87	31	100	1,2	4,3	0
19-Jul-08	24,1	27,7	20,7	75	92	55	204	1,3	4,6	0
20-Jul-08	22,7	26,7	17,7	77	94	58	276	1,8	6,2	0
21-Jul-08	23,5	32,2	15,6	67	96	30	294	1,2	6,1	0
22-Jul-08	24,4	31	18,2	69	99	41	297	1,1	4,9	0
23-Jul-08	25,2	30,6	17,6	60	97	42	337	1,3	5,7	0
24-Jul-08	23,9	29	15,2	54	82	33	321	2	5,8	0
25-Jul-08	24,1	31,8	35,9	64	88	42	328	1,7	6,2	0
26-Jul-08	25,1	33	16,9	58	92	20	314	1,8	6,6	0
27-Jul-08	25,8	33,1	19,2	50	71	31	321	1,7	5,7	0
28-Jul-08	25,1	31,6	17,3	58	93	24	334	1,9	6,7	0
29-Jul-08	24,5	29,4	19,5	43	65	19	339	2,7	6,6	0
30-Jul-08	24,9	29,3	19,7	44	67	27	338	2,6	6,2	0

T temperatura do ar em °C, a 1,5m de altura (md, mx, min – médias, máximas e mínimas diárias)

HR humidade relativa do ar em %, a 1,5m de altura (md, max, min – médias, máximas e mínimas diárias)

DV média geométrica diária da direcção do vento a 2,0m de altura (0° ou 360° = Norte; 90° = Oeste; 180° = Sul; 270° = Este)

VV velocidade do vento em m.s⁻¹ a 2,0m de altura (md, max – médias e máximas diárias)

P precipitação acumulada diariamente em mm ou litros.m⁻²

Anexo 29 - Protocolo para preparação dos reagentes utilizados na preparação das amostras para Microscopia Electrónica de Transmissão (TEM).

1. Preparação do tampão cacodilato de sódio (utilizado na preparação dos dois fixadores) 0,1M, pH 7,2

Soluções “stock”

Sol. A – Cacodilato de sódio (pó) ----- 4,28g
 dH₂O até ----- 100mL
 (dissolver bem e guardar a 4°C)

Sol. B – ácido clorídrico ----- 0,365mL
 dH₂O até ----- 100mL
 (dissolver bem e guardar a 4°C)

Tampão “stock” (0,1M - pH 7,0-7,2)

Sol. A ----- 100mL
 Sol. B----- 16mL

Corrigir o pH e perfazer com
 dH₂O até----- 200mL

2. Preparação do fixador glutaraldeído (C₅H₈O₂) 2,5%

Solução inicial:

- 10ampolas congeladas
- 1ml glutaraldeído 25% / ampola

Para obtenção da solução fixadora a 2,5% prepara-se a quantidade desejada diluída na solução tampão, com a proporção de 1:10 (1ml de glutaraldeído 25% para 10ml de tampão cacodilato de sódio).

☞ O glutaraldeído tem que ser mantido a 4°C (enzimas activas acima dessa temperatura)

3. Preparação do pós-fixador tetróxido de ósmio (OsO₄) 2%

Solução inicial:

- 1g tetróxido de ósmio 99,8% / ampola

Depois de removido o rótulo, a ampola tem que ser muito bem lavada numa mistura cromo-sulfúrica alternadamente com água destilada. Com uma vareta de vidro (também passada pela mistura), parte-se a ampola, recolhendo-se os cristais de ósmio num gobelé. Cada 1g de tetróxido de ósmio é preparado com 25mL de água destilada, obtendo-se uma solução a 4%. Para se obter uma solução a 2%, mistura-se com o tampão cacodilato em volumes iguais (25mL).

☞ Os vapores do tetróxido de ósmio são altamente tóxicos e, como se libertam à temperatura ambiente, devem tomar-se certos cuidados na preparação das soluções contendo este produto. O seu manuseamento deve ser feito na *hotte*

☞ O tetróxido de ósmio reage com compostos orgânicos e é reduzido pela luz, pelo que as soluções contendo este produto devem ser guardadas em frascos castanhos, bem limpos de matéria orgânica, para impedir a deterioração da solução fixadora.

☞ O tetróxido de ósmio deve ser sempre mantido no frio (4°C).

4. Preparação da série de álcoois

50%, 70%, 75% 80%, 85%, 90%
 95% (preparado a partir de álcool absoluto puro - pró-análise)
 100%

5. Preparação do óxido de propileno

O óxido de propileno, que se usa como termo final da desidratação, é um líquido tóxico que se adquire no comércio da especialidade.

Já vem preparado: 500ml, 99%, densidade = 0,830

6. Preparação do epon

Soluções iniciais:

- 2x250ml resina epóxica
- 250ml espessador MNA
- 250ml espessador DDSA
- 250ml polimerizador DMP30

Prepararam-se dois frascos (capacidades de 250mL), bem limpos e bem secos, e em cada um deles fizeram-se as misturas standart de epon.

Mistura A: Juntar Epon 812 (glycidether 100) ----- 62mL
 DDSA ----- 100mL

Mistura B: Juntar Epon 812 (glycidether 100) ----- 100mL
 MNA ----- 100mL

☞ Estas misturas devem ser agitadas (misturadas) muito bem em misturador magnético durante cerca de **12h**.

☞ Estas misturas podem ser conservadas a 4°C, durante 1-2 meses (ou mais tempo a -20°C).

☞ Quando for necessário utilizar as misturas A e B para aplicar na impregnação e na inclusão, deve retirar dos respectivos frascos só a quantidade necessária para proceder à mistura final, recolocando imediatamente as misturas A e B no frigorífico (4°C) para que a temperatura das misturas não sofra oscilações.

Nota: **DDSA** – anidro dodecenil succínico; **MNA** – anidro metil náutico.

Para a impregnação e inclusão, juntar e misturar bem em misturador magnético durante cerca de **1-2h** (fazer o cálculo do volume desejado, para evitar fazer mais epon do que o necessário para a impregnação e inclusão)

Epon final

Mistura A ----- 25mL
 Mistura B ----- 25 mL
 DMP 30 ----- 1mL

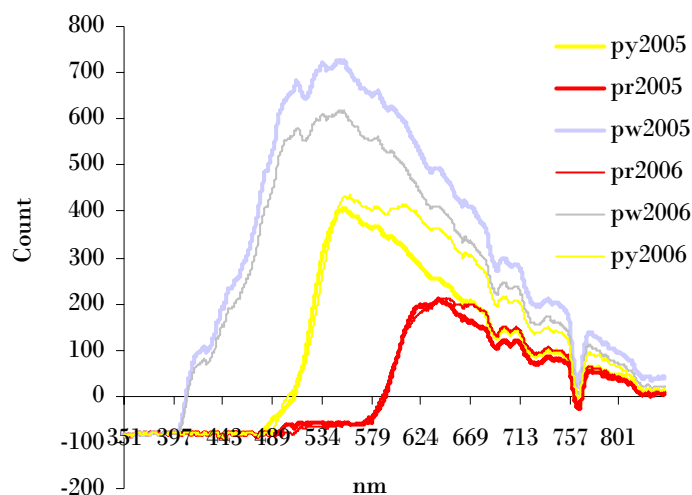
☞ O DMP 30 é um polimerizador que, com temperaturas elevadas, entra em actividade e endurece as misturas.

☞ Antes de iniciar a mistura deve deixar as misturas A e B atingirem a temperatura ambiente [não abrir os frascos antes].

☞ Enquanto se procede às etapas de impregnação e inclusão, o epon em uso deve ser colocado a 4°C, para evitar que a polimerização se inicie.

Nota: Por vezes, quando os blocos não atingem a dureza desejada, é aconselhado juntar à mistura (epon final), mais 1mL de Mistura B e 1 gota de DMP 30

Anexo 30 - Curvas de reflectância das placas de polipropileno alveolar vermelhas, amarelas e brancas, utilizadas em 2005, por Antunes, no estudo da influência da cor na actividade de voo dos machos de *Planococcus citri* (Risso), e das placas utilizadas em 2006, por Pinto, no estudo do efeito de factores de natureza visuais na atracção dos machos relativamente a fontes de feromona. Copiado, sem alterações, do ficheiro enviado de Israel.



Anexo 31 - Curvas de reflectância de sete placas de polipropileno alveolar. Copiado, sem alterações, do ficheiro enviado de Israel.

